



**José Manuel Ribeiro  
Ferreira**

**EFEITO DO TRATAMENTO POR ALTA PRESSÃO NA  
SORÇÃO DE ÁGUA PELO AMIDO**



**José Manuel Ribeiro  
Ferreira**

**EFEITO DO TRATAMENTO POR ALTA PRESSÃO NA  
SORÇÃO DE ÁGUA PELO AMIDO**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia - Ramo Alimentar, realizada sob a orientação científica do Doutor Jorge Manuel Alexandre Saraiva, Investigador Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

## **O júri**

Presidente

**Prof. Doutora Ivonne Delgadillo Giraldo**

Professora associada com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**Prof. Doutor Jorge Manuel Alexandre Saraiva**

Investigador auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**Maria de Fátima Marques Alves Miller**

Investigadora no Centro de Biotecnologia e Química Fina da Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa

## **Agradecimentos**

Os meus agradecimentos ao Doutor Jorge Saraiva, meu orientador, pelos conhecimentos transmitidos e pelo inestimável apoio prestado que permitiu a concretização deste trabalho.

Aos professores que ao longo de todo o percurso do mestrado me auxiliaram com a sua disponibilidade e facilitaram o acesso ao conhecimento.

Aos meus colegas de mestrado que ao longo de todo o tempo, sem que se apercebessem da importância da sua disponibilidade, foram de um importante estímulo para hoje estar aqui a terminar este mestrado.

À minha família na pessoa da minha esposa e das minhas filhas pelas atitudes positivas e apoio com que sempre me brindaram e a título póstumo aos meus pais que puderam ver o início, mas não estarão presentes no final.

Ao departamento de Química da Universidade de Aveiro pela disponibilidade dos meios necessários para a execução do trabalho.

## Palavras-chave

Alta pressão hidrostática, amido, sorção, isotérmicas, FTIR, microscopia electrónica.

## Resumo

O objectivo deste trabalho, foi estudar o efeito de tratamentos de alta pressão na ligação da água ao amido e nas isotérmicas de adsorção e desorção de amido.

O interesse deste tipo de estudos é verificar se o amido pressurizado se poderá comportar diferentemente de amido não pressurizado em relação à sorção de água, o que poderá ter implicações em alimentos que contenham amido e sejam pressurizados.

O trabalho foi desenvolvido, processando suspensões de amido de milho comercial na presença de água a uma pressão de 300 MPa, para diferentes tempos de pressurização (5, 15, 30 e 60 minutos).

Quantificou-se a água ligada ao amido e estudaram-se as isotérmicas de adsorção e de desorção para se entender se os tratamentos por alta pressão poderiam causar alterações nas interações do amido pressurizado com a água.

Executaram-se ainda espectros FTIR de amido liofilizado sem processamento a alta pressão e de amido processado a 300 MPa com diferentes tempos de pressurização e fizeram-se ensaios a pressões de 350 MPa, 425 MPa, 500 MPa e a 600 MPa para observação em microscópio electrónico.

Relativamente ao estudo da incorporação de água em amido, conclui-se que o aumento do tempo de pressurização influencia a quantidade de água ligada ao amido que não é centrifugável. Verificou-se um valor de 4,9% de água retida (g água por 100 g amido seco) na pressurização a 60 minutos. Na liofilização verificou-se que a água liofilizada na pressurização a 60 minutos é ligeiramente inferior à água ligada o que pode indiciar a presença de água retida mais fortemente ligada no amido. No entanto pela análise dos valores dos parâmetros calculados pela modelização pelos modelos BET e GAB conclui-se que a energia de interação entre a água e o amido aumenta com a pressurização (aumento dos valores de  $C_b$  desde 18,45 a 54,51 e  $C_g$  desde 11,60 a 19,50) e o conteúdo da água na monocamada,  $M_m$ , apresenta valores de (0,035 a 0,069 e 0,050 a 0,101 g de água/g amido) com uma tendência para aumentarem com o tempo de pressurização. Das observações realizadas nos espectros obtidos por FTIR e na microscopia electrónica verificaram-se alterações no amido com o aumento do tempo de pressurização.

**Keywords**

High hydrostatic pressure, starch, sorption, isotherms, FTIR, electronic microscopy

**Abstract**

The objective of this study was to verify if pressurized starch behaves differently in relation to non-pressurized starch, in what concerns water binding and water sorption, what may be of interest for foods that contain starch and are pressurized.

The study was conducted by processing commercial corn starch suspensions at a pressure of 300 MPa for different times of pressurization (5, 15, 30 e 60 minutes).

The amount of water bound to the starch due to the high pressure processing was quantified and the adsorption and desorption isotherms were also studied, to understand if the incorporation of water would cause effects that can modify the interaction of pressurized starch and water.

FTIR spectra were also done on freeze-dried starch without being processed at high pressure and starch processed at 300 MPa at different times of pressurization and tests were performed using pressures of 350 MPa, 425 MPa, 500 MPa, and at 600 MPa for electronic microscope observation.

It could be conclude that the incorporation of water in starch increased whith the pressurization time and that it influences the quantity of water that remains in starch. A value of 4.9% (g water per 100 g dry starch) was found to bind to starch when starch was pressurized for 60 minutes. Freeze-dried water in starch presurized for 60 minutes was slightly lower than the bound water, which may indicate the presence of water held more tightly in the starch. Analysis of the parameter values calculated by modelling, using the BET and the GAB models, allowed concluding that the energy of interaction between water and starch increased with pressure ( $C_b$  values increased from 18.45 to 54.51 and  $C_g$  from 11.60 to 19.50) and the monolayer water contents values,  $M_m$ , presented a tendency to increase with increasing pressure time (from 0.035 to 0.069 and 0.050 to 0.101 g water/g starch).

By FTIR spectra and by electron microscopy it was possible to observe changes in the starch with increasing presure time.



## Índice

Índice .....	i
Índice de figuras .....	iii
Índice de gráficos .....	v
Índice de tabelas .....	vii
I. Revisão Bibliográfica .....	1
1. Amido .....	1
1.1 Introdução .....	1
1.2 Ocorrência - estrutura do amido .....	2
1.3 Gelatinização .....	9
1.4 Retrogradação .....	10
2. Água em alimentos .....	11
2.1 Actividade de água .....	13
2.2 Fenómeno de sorção e isotérmicas de sorção .....	14
2.3 Fenómeno de histerese .....	16
2.4 Modelização das isotérmicas de sorção .....	17
2.5 Sorção de água em amido .....	19
3. Tratamento por Pressão .....	20
3.1 Tratamento por Pressão de Alimentos .....	22
3.2 Efeitos do tratamento por pressão em alimentos .....	25
3.2.1 Efeito da alta pressão sobre os microorganismos .....	27
3.2.2 Efeito da alta pressão nas reacções químicas e bioquímicas ...	28
3.2.3 Efeito da alta pressão nas Reacções enzimáticas .....	29
3.2.4 Efeito da alta pressão nas Propriedades funcionais .....	30
3.2.5 Efeito da alta pressão nas Propriedades sensoriais .....	31
3.3 Efeito da alta pressão sobre o amido .....	31
3.3.1 Efeitos da alta pressão na hidrólise enzimática do amido .....	33
3.3.2 Efeitos da alta pressão na gelatinização do amido .....	33
II. Metodologia Aplicada .....	36
1. Estudo da incorporação de água no amido .....	36
2. Determinação das isotérmicas de adsorção e desorção .....	38
3. Modelização das isotérmicas de adsorção e desorção .....	40
III. Análise e discussão dos resultados .....	43
1. Estudo da incorporação de água .....	43
1.1 Pressurização a 300 Mpa .....	43



1.1.1	Centrifugação .....	44
1.1.2	Liofilização .....	45
2.	Estudo das isotérmicas de adsorção e desorção de água .....	47
2.1	Pressurização a 300 MPa .....	47
IV.	FTIR .....	60
V.	Microscopia .....	62
VI.	Conclusão.....	66
	Referências bibliográficas .....	68

## Índice de figuras

<i>Figura 1:</i> Amido de milho .....	3
<i>Figura 2:</i> Alguns tipos de grânulos de amido, observados ao microscópio: microfotografias de grânulos de amido (500X) retirados de, Peteres (1964) e Knox et.al. (1994) .....	3
<i>Figura 3:</i> Representação da estrutura parcial da amilose (imagem retirada do site <a href="http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html">www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html</a> ). .....	4
<i>Figura 4:</i> Representação da estrutura parcial da amilopectina - (imagem retirada do site <a href="http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html">www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html</a> ). .....	5
<i>Figura 5:</i> Representação esquemática do aspecto da estrutura da amilopectina e da sua organização em regiões amorfas e cristalinas (imagem retirada do site <a href="http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html">www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html</a> ). .....	6
<i>Figura 6:</i> Representação esquemática do crescimento radial das moléculas a partir do hilum (imagem retirada do site <a href="http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html">www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html</a> ) .....	6
<i>Figura 7:</i> Microfotografias de dispersões de amido sob luz polarizada (a) e sob luz natural (b) onde se observa a presença da cruz polarizada em a (birrefringência), que é uma indicação da estrutura quase cristalina dos grânulos.....	7
<i>Figura 8:</i> Padrões de difracção Raio-X de amido de tipo A, B e C (Eliasson, 1996).....	7
<i>Figura 9:</i> Representações esquemáticas do arranjo de seis duplas hélices paralelas de amido que lhe conferem os padrões do tipo A e do tipo B. ....	8
<i>Figura 10:</i> : Representação esquemática da retrogradação do amido (Tucker and Woods, 1995).....	11
<i>Figura 11:</i> Tipos de isotérmica segundo a classificação estabelecida por Brunauer, imagem adaptada de: <a href="http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/059/imgs/f12p58.gif">http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/059/imgs/f12p58.gif</a> .....	15
<i>Figura 12:</i> Isotérmicas de adsorção e desorção para um sistema alimentar, imagem adaptada de: <a href="http://fst.osu.edu/olympiad/Laboratories/Olymp/Lab%201_WaterActivity.htm">http://fst.osu.edu/olympiad/Laboratories/Olymp/Lab%201_WaterActivity.htm</a> ). ...	16
<i>Figura 13:</i> Pontes de hidrogénio entre as moléculas de água e o amido (Beery and Ladisch, 2001).....	19
<i>Figura 14:</i> Representação esquemática do princípio isostático do processamento por alta pressão (Rahman, 1998).....	21

<i>Figura 15:</i> Utilização da alta pressão como preservação nos diferentes segmentos da indústria (Heinz, Buckow, 2009).....	26
<i>Figura 16:</i> SEM de amido comercial 20% (H <sub>2</sub> O) - Após gelatinização em reómetro a 90 <sup>o</sup> C e liofilizado.....	35
<i>Figura 17:</i> SEM de amido comercial 500% (H <sub>2</sub> O) Após gelatinização a 600 Mpa 20 min. e liofilizado .....	35
<i>Figura 18:</i> Fotografia da bateria de sais usada no estudo das isotérmicas de adsorção e desorção.....	38
<i>Figura 19:</i> SEM de amido liofilizado sem pressurização obtido em microscópico electrónico Hitachi SU-70 a 15 KV. ....	62
<i>Figura 20:</i> SEM de amido liofilizado pressurizado 30 min a 300 MPa obtido em microscópico electrónico Hitachi SU-70 a 15 KV.....	62
<i>Figura 21:</i> SEM de amido liofilizado pressurizado 60 min a 300 MPa obtido em microscópico electrónico Hitachi SU-70 a 15 KV.....	63
<i>Figura 22:</i> fotografias SEM do amido liofilizado pressurizado a 350 MPa, 425 MPa, 500 MPa e 600 MPa .....	64 e 65

## Índice de gráficos

<i>Gráfico 1:</i> Representação gráfica dos resultados obtidos para a centrifugação a 300 MPa. ....	45
<i>Gráfico 2:</i> Representação gráfica dos resultados obtidos para a liofilização a 300 MPa água liofilizada .....	46
<i>Gráfico 3:</i> Representação gráfica dos resultados obtidos para as isotérmicas de adsorção de amido não pressurizado e amido pressurizado.....	51
<i>Gráfico 4:</i> Representação gráfica dos resultados obtidos para a diferença entre as isotérmicas de adsorção de amido pressurizado nos diversos tempos de pressurização e da isotérmica do controlo.. ....	51
<i>Gráfico 5:</i> Representação gráfica dos resultados obtidos para as isotérmicas de desorção de amido nos diversos tempos de pressurização .....	52
<i>Gráfico 6:</i> Representação gráfica dos resultados obtidos para a diferença entre as isotérmicas de desorção de amido nos diversos tempos de pressurização e a isotérmica de desorção do controlo.....	52
<i>Gráfico 7:</i> Representação gráfica da histerese para o amido pressurizado nos diferentes tempos e para o controlo da pressurização a 300 MPa. ....	53
<i>Gráfico 8:</i> Representação gráfica dos valores de $C_b$ de BET e $C_g$ de GAB.....	54
<i>Gráfico 9:</i> Representação gráfica de $M_m$ de BET e $M_m$ de GAB.. ....	55
<i>Gráfico 10:</i> Representação gráfica dos valores experimentais e das linhas previstas pelos modelos BET e GAB para as isotérmicas de adsorção e desorção do controlo da pressurização a 300 MPa.. ....	57
<i>Gráfico 11:</i> Representação gráfica dos valores experimentais e das linhas previstas pelos modelos BET e GAB para as isotérmicas de adsorção e desorção do amido pressurizado a 300 MPa durante 5 minutos.....	58
<i>Gráfico 12:</i> Representação gráfica dos valores experimentais e das linhas previstas pelos modelos BET e GAB para as isotérmicas de adsorção e desorção do amido pressurizado a 300MPa durante 15 minutos.....	58
<i>Gráfico 13:</i> Representação gráfica dos valores experimentais e das linhas previstas pelos modelos BET e GAB para as isotérmicas de adsorção e desorção do amido pressurizado a 300 MPa durante 30 minutos.. ....	58
<i>Gráfico 14:</i> Representação gráfica dos valores experimentais e das linhas previstas pelos modelos BET e GAB para as isotérmicas de adsorção e desorção do amido pressurizado a 300 MPa durante 60 minutos.....	58

*Gráfico 15:* Espectro FTIR sobre amido liofilizado, não pressurizado, amido pressurizado durante 30 minutos e 60 minutos a 300 MPa.....60

*Gráfico 16:* Representação das absorvâncias a  $1640\text{ cm}^{-1}$ . . . . .61

## Índice de tabelas

Tabela 1: Forma e dimensão dos grânulos de amido das principais fontes (Frazier et al., 1997).....	3
Tabela 2: Alguns produtos alimentares processados por alta pressão (Rahman, 1998).....	23
Tabela 3: Vantagens e limitações do processamento alimentar por alta pressão (Oliveira and Oliveira, 1999).....	25
Tabela 4: Registos das pressões às quais microorganismos vegetativos e esporulados são inactivados (Rahman, 1998).....	28
Tabela 5: Estudo da incorporação de água.....	37
Tabela 6: Sais usados na bateria de sais e respectivas aw de acordo com a literatura.....	39
Tabela 7: Registo dos resultados para a centrifugação das amostras da pressurização a 300 MPa.....	44
Tabela 8: Registo dos valores estimados para o máximo de água que se conseguiu incorporar com recurso à pressurização a 300 MPa. ....	45
Tabela 9: Registo dos resultados da liofilização das amostras da pressurização a 300 MPa. ....	46
Tabela 10: Comparação dos valores de água retida e da água liofilizada para a pressurização a 300 MPa.....	47
Tabela 11: Registo dos valores calculados para os teores de água usados na construção das isotérmicas de adsorção e desorção de água para o controlo da pressurização a 300 MPa.....	48
Tabela 12: Registo dos valores calculados para os teores de água usados na construção das isotérmicas de adsorção e desorção de água para a amostra da pressurização a 300 MPa durante 5 minutos. ....	48
Tabela 13: Registo dos valores calculados para os teores de água usados na construção das isotérmicas de adsorção e desorção de água para a amostra da pressurização a 300 MPa durante 15 minutos. ....	49

Tabela 14: Registo dos valores calculados para os teores de água usados na construção das isotérmicas de adsorção e desorção de água para a amostra da pressurização a 300 MPa durante 30 minutos. ....49

Tabela 15: Registo dos valores calculados para os teores de água usados na construção das isotérmicas de adsorção e desorção de água para a amostra da pressurização a 300 MPa durante 60 minutos. ....50

Tabela 16: Registo dos valores calculados para os parâmetros que compõem os modelos BET e GAB para o amido pressurizado e para o controlo da pressurização a 300 MPa.....54

Tabela 17: Registo dos valores do erro associado à modelização para a amostra e controlo da pressurização a 300 MPa. ....59

## **I - Revisão Bibliográfica**

### **1. Amido**

#### **1.1 Introdução**

O amido é um polissacarídeo pouco solúvel e de elevado peso molecular que se forma nos cloroplastos das plantas como amido de assimilação, nos leucoplastos como amido de reserva e sob a forma de pequenos grânulos redondos ou ovais em raízes, tubérculos, sementes e frutos (Katopo et al., 2001). De facto, é o segundo composto mais abundante sintetizado pelas plantas, sendo a celulose o primeiro (Tucker and Woods, 1995). É o hidrato de carbono de reserva mais importante nas plantas e dele provêm 70 a 80 % das calorias consumidas pelos humanos a nível mundial (BeMiller and Whistler, 1997).

O amido obtém-se a partir de produtos ricos nesta substância - milho, arroz, trigo, as raízes (tapioca) e os tubérculos (batata) (Tucker and Woods, 1995). Depois de isolado, o amido pode ser processado quimicamente ou enzimaticamente, sendo usado numa grande variedade de diferentes produtos. Em função do tipo de utilização o mercado pode ser dividido em agroalimentar, papelero, químico e têxtil, os principais. Na união europeia foram produzidos em 2000, 3,9 milhões de toneladas de amido de milho, 2,8 milhões de toneladas de amido de trigo e 1,8 milhões de toneladas de amido de batata (Fonte : Comissão Europeia - DG Agricultura, Unidade C2, 2002). As principais aplicações do amido são como alimento, na obtenção de glucose, em têxteis, como amido de lavagem, no fabrico de colas, espessamento de pastas de estampagem, produção de maltodextrinas ou ciclodextrinas (Marc et al., 2002).

O amido é constituído por amilose, cadeia linear de moléculas de glucose, e amilopectina, molécula semelhante à amilose, mas de cadeia ramificada. A amilose, solúvel em água, encontra-se no interior dos grãos de amido e a amilopectina, insolúvel em água, situa-se no invólucro. Aquecendo com água a 90 °C, a amilopectina aumenta de volume e forma a cola de amido, enquanto a amilose se dissolve coloidalmente, podendo ser, por acção de um ácido diluído, hidrolisada em glucose. Com o auxílio de enzimas,  $\beta$ -amilase e amiloglucosidases, a amilopectina é hidrolisada a maltose até cerca de 60%.



No caso da hidrólise ácida de amido, este método foi usado até 1960, mas as desvantagens existentes, devido à necessidade do uso de materiais resistentes à corrosão e a formação de largas quantidades de produtos de degradação (hidroximetilfurfural, ácido levulínico, etc.), tornando muito lenta a produção de glucose, foi em grande parte substituída pelo processo enzimático. No entanto, na hidrólise enzimática encontramos dois inconvenientes relevantes, primeiro o custo elevado das enzimas comerciais e em segundo o longo tempo de hidrólise, que leva horas, enquanto o tempo da hidrólise ácida ocorre em minutos. Estas diferenças nas taxas de conversão devem-se à redução da actividade enzimática causada por um efeito de inibição pelo produto, quando altas concentrações de açúcares estão presentes (Ochoa et al., 2007).

Entre as diversas enzimas utilizadas para hidrolisar o amido, encontramos a  $\alpha$ -amilase, a  $\beta$ -amilase (originárias de fungos e bactérias), a glucoamilase (amiloglucosidase), a pululanase e a isoamilase. A caracterização destas enzimas é feita pela sua diferente acção sob os polissacarídeos (Tucker and Woods, 1995).

As amilases são enzimas que catalizam a hidrólise do amido. Estas enzimas encontram-se com abundância distribuídas na natureza e são amplamente usadas na indústria, principalmente na indústria alimentar (Gerhartz, 1990).

## **1.2 Ocorrência - Estrutura do amido**

O amido tem a particularidade de ocorrer naturalmente como partículas designadas por grânulos de amido, (BeMiller and Whistler, 1997).

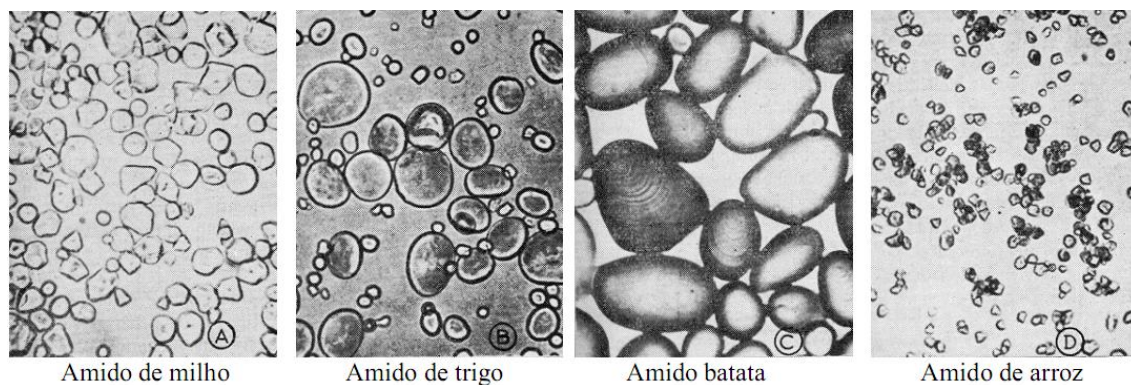
O diâmetro dos grânulos de amido varia entre 0.5 e 175  $\mu\text{m}$  (Schenck, 1992). Os grânulos são densos, insolúveis e hidratam levemente em água à temperatura ambiente (BeMiller and Whistler, 1997). Devido à elevada densidade dos grânulos consegue-se a sua separação através de processos de lavagem, centrifugação e sedimentação por gravidade ou por filtração durante os processos de isolamento, modificação química e lavagem (Frazier et al., 1997). Na Figura 1 pode-se ver o aspecto do amido de milho comercial.

Encontramos diferentes formas nos grânulos de amido (Figura 2), em forma de disco, em forma de “rim”, esférica, oval, angular ou outras formas irregulares (Frazier et al., 1997).

Na Tabela 1 encontram-se resumidas as formas e os diâmetros dos grânulos de amido provenientes de diferentes fontes.



**Figura 1:** Amido de milho



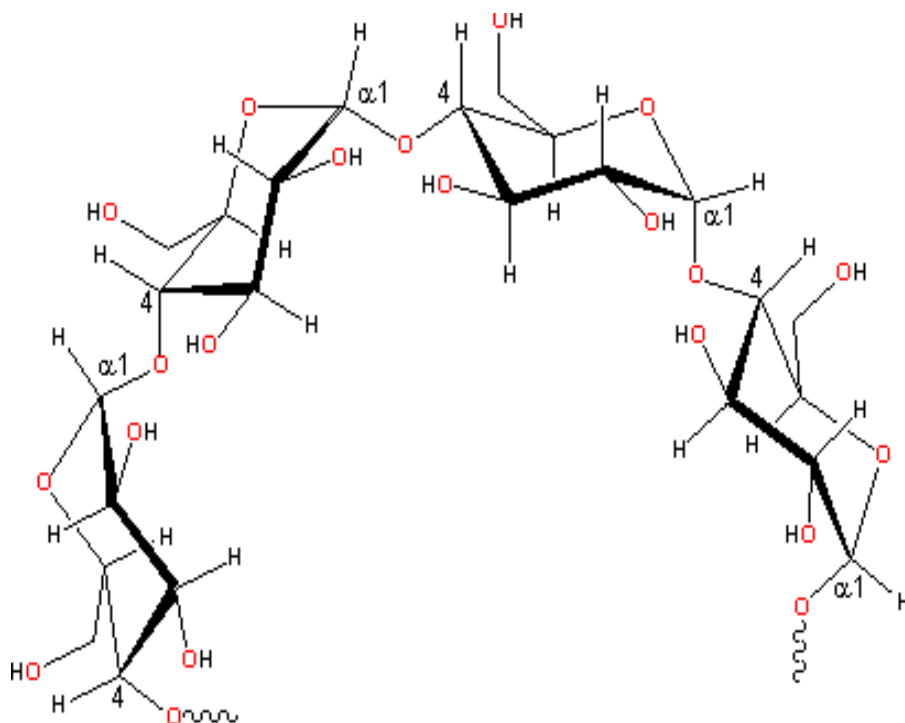
**Figura 2:** Alguns tipos de grânulos de amido, observados ao microscópio: microfotografias de grânulos de amido (500X) retirados de, Peteres (1964) e Knox et.al. (1994)

**Tabela 1:** Forma e dimensão dos grânulos de amido das principais fontes (Frazier et al., 1997).

Origem	Forma dos grânulos	Diâmetro dos grânulos
		( $\mu\text{m}$ )
Milho	Esférica e angular	5-20
Batata	Oval e esférica	15-75
Trigo	Grânulos grandes – forma de disco	22-36
	Grânulos pequenos – forma esférica	2-3

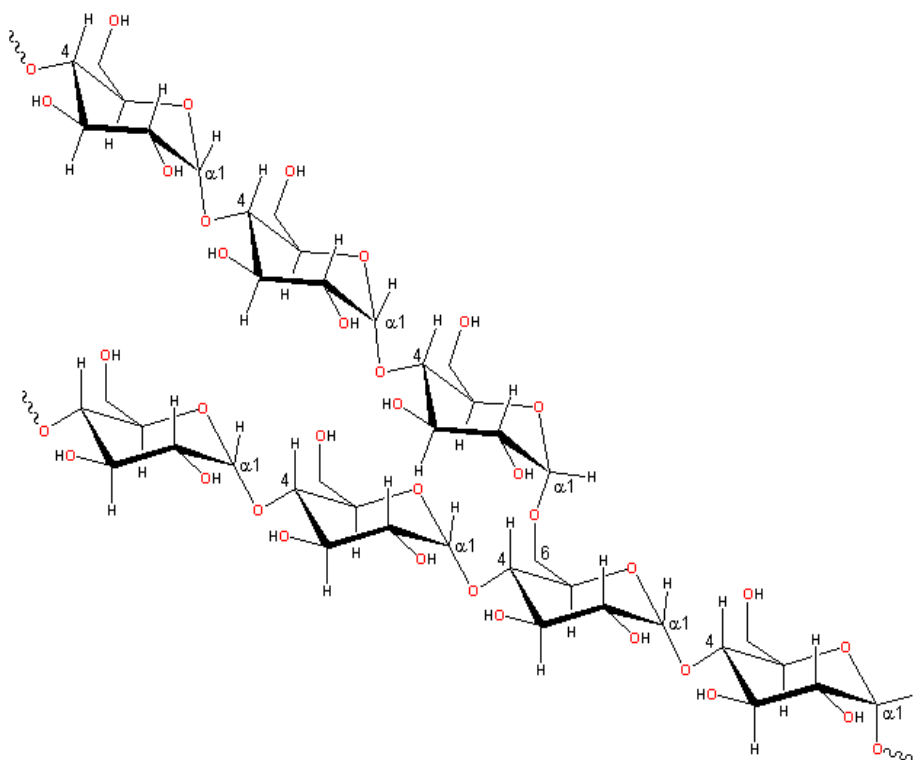
Os grânulos de amido são uma mistura dos dois polissacarídeos: a amilose e a amilopectina, havendo ainda cinzas, lípidos e proteínas em quantidades reduzidas (BeMiller and Whistler, 1997).

A amilose (Figura3) é constituída por cerca de 250 a 300 resíduos de D-glucose ligadas por ligações  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4). Algumas moléculas de amilose possuem ramificações  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  6) contabilizando cerca de 0,3 a 0,5% de todas as ligações. Como estas ramificações são geralmente ou muito longas ou muito curtas e ficam separadas por longas distâncias, isto leva as moléculas de amilose a comportarem-se essencialmente como polímeros lineares (BeMiller and Whistler, 1997). O tamanho molecular da amilose encontra-se compreendido entre 200 e 20,000 resíduos de glucose, existindo algumas exceções. Os amidos com origem nas raízes e tubérculos contêm menos segmentos pequenos do que os amidos com origem nos cereais (Eliasson, 1996).



**Figura 3:** Representação da estrutura parcial da amilose (imagem retirada do site [www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html](http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html))

Já a amilopectina Figura 4 é uma macromolécula enorme e extremamente ramificada, menos hidrossolúvel que a amilose e é constituída por cerca de 1.400 resíduos de D-glucose unidos por ligações  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4) e com ramificações em ligação  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  6) (Tucker and Woods, 1995).

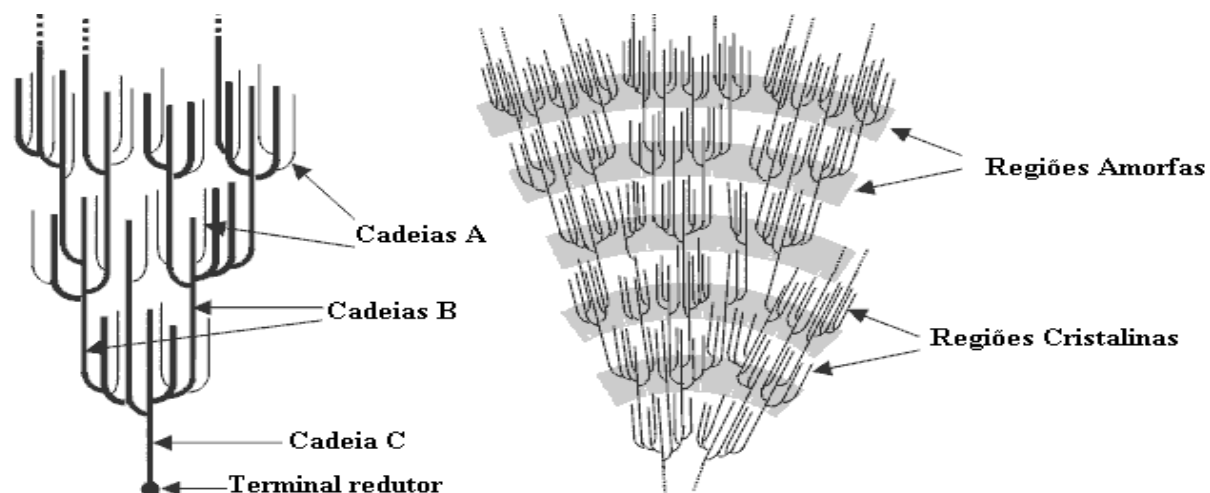


**Figura 4:** Representação da estrutura parcial da amilopectina - (imagem retirada do site [www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html](http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html))

As cadeias de amilopectina distribuem-se numa cadeia principal, chamada cadeia C, onde se encontra o único terminal redutor da molécula e numerosas ramificações denominadas por cadeias B (Figura 5). As cadeias B encontram-se ligadas por ligações  $\alpha(1 \rightarrow 6)$  através do seu terminal redutor a cadeias lineares denominadas por cadeias A (BeMiller and Whistler, 1997) (Figura 4).

Nos grânulos de amido as moléculas de amilopectina surgem na forma de duplas hélices emparelhadas. Isto deve-se à ocorrência de arranjos entre as moléculas de amilopectina que resultam na formação destas estruturas com algum grau de estabilidade. As moléculas de amilose ocorrem entre as moléculas de amilopectina (BeMiller and Whistler, 1997).

Os grânulos completos de amido são constituídos por zonas cristalinas e zonas não cristalinas (zonas amorfas), em camadas alternadas (BeMiller and Whistler, 1997). As ramificações da amilopectina constituem as zonas amorfas, enquanto as zonas lineares formam as zonas cristalinas (Figura 5).



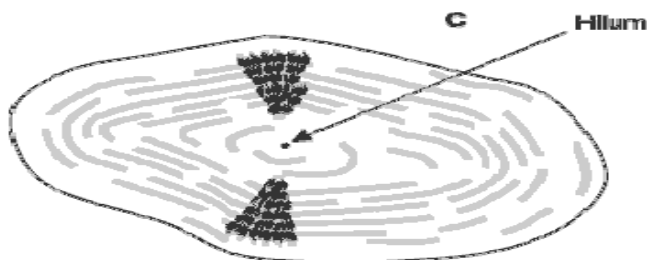
**Figura 5:** Representação esquemática do aspecto da estrutura da amilopectina e da sua organização em regiões amorfas e cristalinas (imagem retirada do site [www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html](http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html)).

A amilose e a amilopectina aparecem com diferentes proporções nas diferentes origens de amidos contribuindo para as diferentes propriedades físicas e químicas encontradas (Tucker and Woods, 1995).

No geral, a porção menor, constituindo 15 a 30% na maioria dos amidos, é a amilose, embora existam algumas variedades de trigo mutante que produzem de 1,2 a 39,5% de amilose ou variedades de milho com 100% de amilopectina (amido “waxy”) (Blaszczyk et al., 2005).

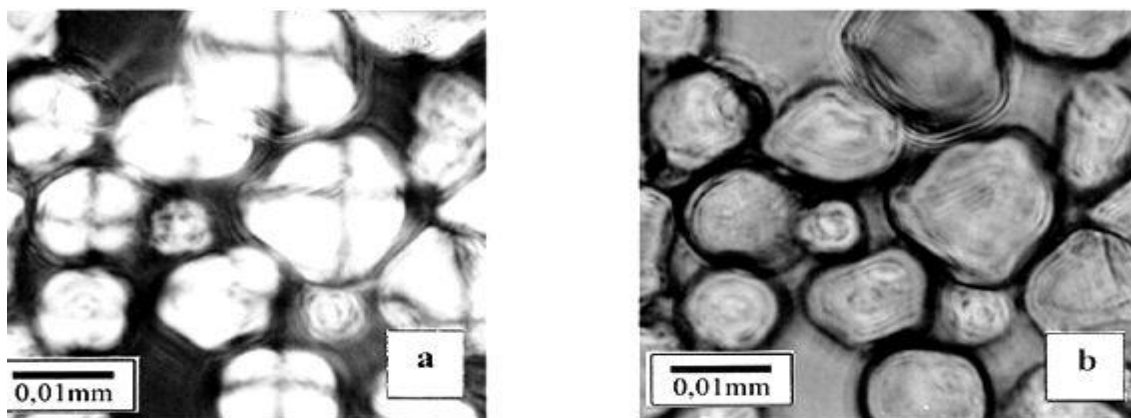
À medida que as moléculas de amido se vão formando nos amiloplastos, interagem umas com as outras dando origem a uma massa ordenada, compacta e semi-cristalina (BeMiller and Whistler, 1997).

A região de moléculas ordenadas continua a crescer numa direcção radial a partir do centro de crescimento, chamado hilum (Figura 6), (BeMiller and Whistler, 1997).



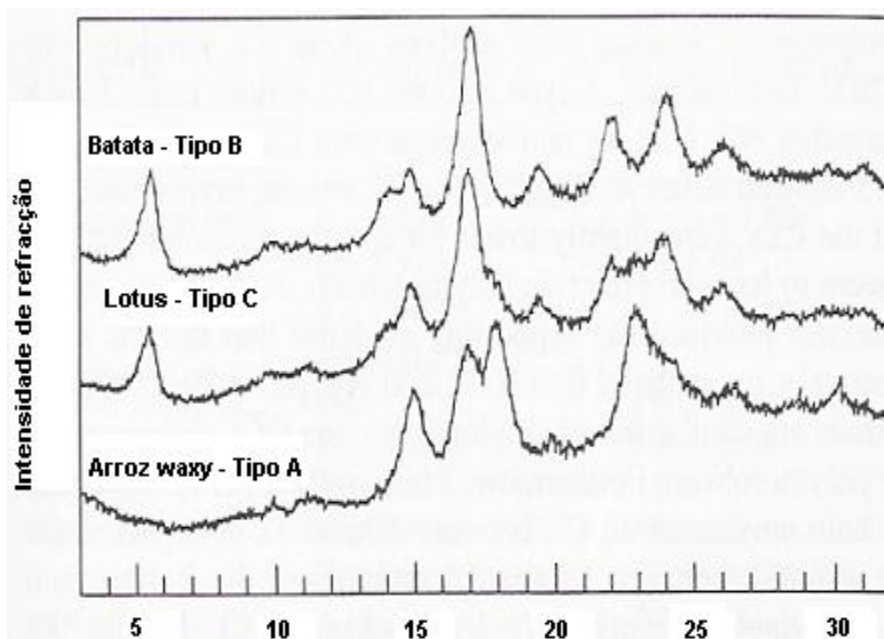
**Figura 6:** Representação esquemática do crescimento radial das moléculas a partir do hilum (imagem retirada do site [www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html](http://www.lsbu.ac.uk/water/hysta/html)).

O arranjo radial das moléculas de amido nos grânulos confere-lhe uma estrutura natural quase cristalina, que pode ser verificada pela observação de uma cruz polarizada (birrefringência) quando observados por microscopia sob luz polarizada (Figura 7). O centro da cruz é o hilum (BeMiller and Whistler, 1997).



**Figura 7:** Microfotografias de dispersões de amido sob luz polarizada (a) e sob luz natural (b) onde se observa a presença da cruz polarizada em a (birrefringência), que é uma indicação da estrutura quase cristalina dos grânulos.

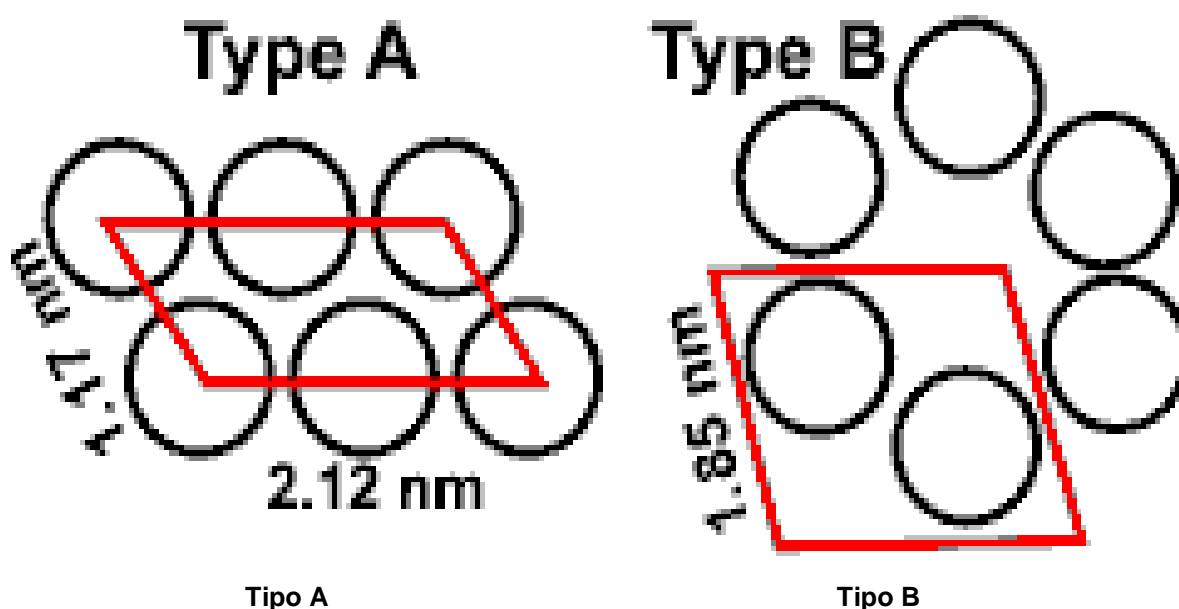
Os grânulos de amido de várias fontes botânicas possuem um de três padrões de difracção raio-X, designados tipos A, B e C (Figura 8).



**Figura 8:** Padrões de difracção Raio-X de amido de tipo A, B e C (Eliasson, 1996).

Exibem padrões do tipo A a maioria dos amidos de cereais, como o amido de milho, o amido de arroz, o amido de trigo e o amido de aveia, designado também pelo tipo dos cereais. Apresentam padrões do tipo B o amido de batata, amido de lírio, amido de cana-da-índia e amido de tulipa, designado também pelo tipo dos tubérculos. Alguns amidos de raízes apresentam padrões do tipo A, como alguns amidos de batatas-doces e o amido de tapioca, e amidos de alguns cereais como o amido de amilomaizena, o amido de cevada rico em amilose e o amido de arroz rico em amilose demonstram padrões do tipo B. O amido de tipo C é considerado como uma mistura dos amidos A e B em várias proporções. Ao tipo C pertencem diversos amidos de rizomas e de feijão (Eliasson, 1996).

Enquanto que um padrão de raio-X do tipo A demonstra que as duplas hélices paralelas são separadas por água intersticial, nos amidos que produzem padrões de raio-X do tipo B, o centro da dupla hélice é substituído por moléculas de água (BeMiller and Whistler, 1997). Na Figura 9, estão caracterizados os esquemas relativos aos padrões de raio-X do tipo A e do tipo B.



**Figura 9:** Representações esquemáticas do arranjo de seis duplas hélices paralelas de amido que conferem ao amido os padrões do tipo A e do tipo B

Os amidos do tipo C apresentam estruturas que apresentam características dos amidos de tipo A e B.



Diferentes tipos de amido na forma granular apresentam diferentes digestibilidades. O valor nutricional do amido é afectado pela digestibilidade. Estudos demonstraram que amidos que apresentam um padrão de cristalinidade do tipo A, tal como o amido de milho e o amido de arroz sofrem forte digestibilidade comparada com a digestibilidade dos amidos do tipo B, tal como o amido de batata e o amido de banana. O motivo pelo qual os amidos do tipo B são mais resistentes à hidrólise ácida e enzimática não é clara. A maioria dos amidos nativos de tipo B apresenta cadeias ramificadas extensas, sendo por isso plausível que a longa cadeia de duplas hélices afecte a digestibilidade. É também possível que amidos do tipo B possuam pontos de ramificação presentes no interior da zona cristalina tendo assim mais resistência à hidrólise enzimática (Frazier et al., 1997).

Os grânulos podem ser usados em vários produtos dependendo do seu tamanho e forma. Grânulos de pequenas dimensões são também usados em aplicações na área dos aromas (Frazier et al., 1997).

### **1.3 Gelatinização**

Os grânulos de amido, podem ser submetidos ao processo de formação do gel, que consiste no aquecimento de uma solução de amido-água a temperaturas superiores a 60°C. Durante este processo os grânulos começam a absorver água e incham devido à ruptura das estruturas cristalinas dos grânulos de amido, o qual absorve água e irreversivelmente incha, adquirindo tamanho maior que o original (Tucker and Woods, 1995).

A gelatinização conduz à perda da estrutura organizada dos grânulos de amido, à perda de birrefringência e à perda de cristalinidade dos grânulos (BeMiller and Whistler, 1997). Um método de medição da temperatura de gelatinização é a medição da temperatura à qual se perde a birrefringência (Tucker and Woods, 1995).

O inchamento dos grânulos está relacionado com a interacção entre as cadeias de amido dentro das fracções cristalinas e amorfas. A extensão desta interacção é influenciada pelas características da amilose e amilopectina em termos de peso



molecular, distribuição, grau de ramificação, extensão das ramificações e conformação (Oh et al., 2008).

Com o aquecimento, a estrutura dos grânulos é destruída e dá origem a uma massa viscosa composta de agregados de amido, formando uma dispersão coloidal de amido que se designa por “pasta de amido” (Tucker and Woods, 1995). Esta pasta de amido consiste numa fase contínua de amilose e/ou amilopectina solubilizada e uma fase descontínua formada pelos restos dos grânulos (BeMiller and Whistler, 1997). As pastas de amido são mais susceptíveis às conversões enzimáticas (Tucker and Woods, 1995). As pastas de amido são usadas em produtos alimentares como espessantes, texturantes, substituintes de gordura e são também usadas para dar corpo a cervejas e bebidas leves (Frazier et al., 1997).

As pastas de amido possuem propriedades distintas entre si dependendo da sua proveniência, ou seja, das suas diferentes fontes botânicas. É sabido que, por exemplo, o amido de batata produz uma pasta cristalina com uma alta viscosidade comparada com outros amidos como o de trigo, arroz e milho (Frazier et al., 1997).

#### **1.4 Retrogradação**

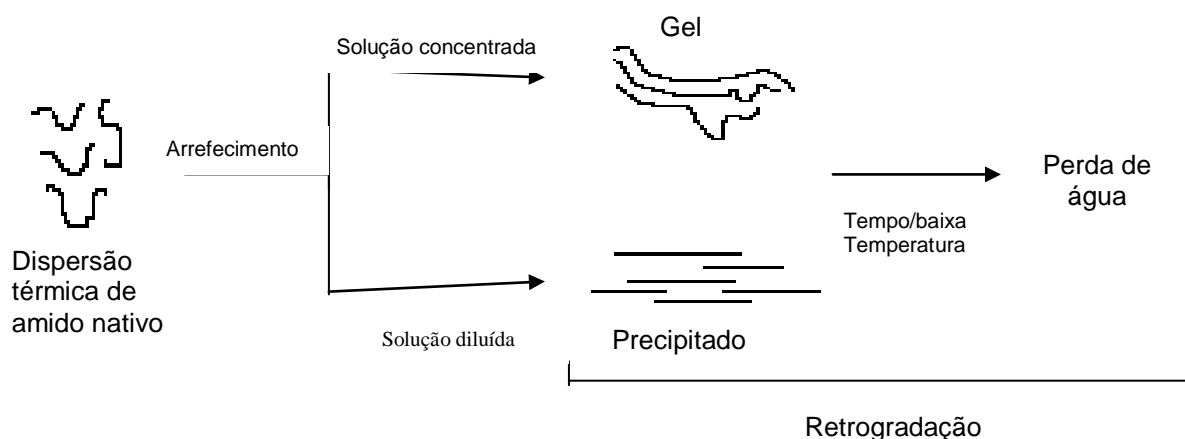
Após a gelatinização do amido, quando a temperatura é reduzida à temperatura ambiente, ocorre um rearranjo das moléculas por ligações de hidrogénio, o que favorece a recristalização, a retrogradação (Parker et al., 2001).

A retrogradação do amido é um fenómeno que deve ser minimizado por se tratar da reconstrução de uma estrutura mais rígida devido às cadeias de amilose ficarem mais disponíveis para se rearranjarem, resultando em maior perda de água do sistema e endurecimento do produto final.

Com o arrefecimento, algumas moléculas de amido começam a reassociar-se, formando um precipitado ou gel aumentando a opacidade da pasta, retrogradação (BeMiller and Whistler, 1997).

Se a dispersão de amido for diluída, a retrogradação resulta na formação de um precipitado branco insolúvel, enquanto se a dispersão de amido for suficientemente concentrada resulta na formação de uma matriz tridimensional e

num gel elástico (Tucker and Woods, 1995) (Figura 10). Em geral a retrogradação é causada por associação de moléculas de amilose por pontes de hidrogénio (Tucker and Woods, 1995). O efeito de rede dá lugar a uma rede tridimensional contínua de grânulos inchados, com água retida na malha. No entanto, as partes lineares das moléculas de amilopectina podem também interagir por um processo similar. Contudo, amidos que apenas contenham amilopectina não formam géis, a não ser que a solução esteja muito concentrada.



**Figura 10:** Representação esquemática da retrogradação do amido (Tucker and Woods, 1995)

Existem vantagens e desvantagens associadas ao fenómeno de retrogradação. A vantagem mais óbvia da retrogradação é a formação de um gel. Alguns exemplos de desvantagens associados à retrogradação são: o desenvolvimento de opacidade, o desenvolvimento de uma “capa” presente nas pastas aquecidas e a separação de água (Tucker and Woods, 1995).

Os géis de amido resultantes da retrogradação são usados por exemplo na indústria da confeitaria para fornecerem estrutura a pães, bolos e pudins devido as suas características únicas (Frazier et al., 1997).

## 2. Água em alimentos

A água é a substância mais abundante na terra e um dos mais importantes componentes nos sistemas alimentares (Ruan and Chen, 1998) influenciando significativamente tanto as variáveis do processamento alimentar bem como as características e a estabilidade dos produtos (McMinn and Magee, 1997). A água pode aparecer como componente intracelular ou extracelular quer em produtos

vegetais quer em produtos animais e como meio dispersante ou solvente em diferentes tipos de produtos.

A presença de água é duma importância enorme como constituinte alimentar e uma abordagem para entendermos as suas propriedades e comportamento apresenta-se como uma necessidade. Sabemos que a água influencia a deterioração química e microbiológica dos alimentos. A sua remoção através de secagem ou congelação, por exemplo, é essencial em alguns métodos de preservação de alimentos (deMan 1999). O conteúdo de água do alimento é afectado pela sua remoção, mas também outras características físicas, biológicas e químicas como a actividade enzimática, a produção de esporos por microorganismos, a viscosidade, a dureza, o aroma, o sabor e a aparência dos alimentos, são alterados (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996).

A água apresenta-se nos alimentos entre dois estados principais, a água livre ou não ligada e a água ligada. A água que se encontra no interior do alimento sob a forma de água pura é a água livre ou água não ligada. Durante um período de secagem a uma taxa constante, quando a natureza do alimento não tem um efeito elevado no processo de secagem, conseguimos remover a água livre (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996).

O termo água ligada aparece definido como a água que exhibe uma menor pressão de vapor, uma menor mobilidade e um muito menor ponto de congelação em relação à água pura. As moléculas de água ligada possuem propriedades cinéticas e termodinâmicas diferentes do que as moléculas de água comuns (Okos et al. 1992; Leung 1986 ; Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996),

Assim na forma de água ligada, a água não está disponível como solvente e não é congelável. Não é fácil apontar uma definição exacta para a água ligada, porque muito depende da técnica usada para a sua medição. Duas definições correntes apresentadas são, (deMan 1999):

- Uma, em que, água ligada é a água que não congela a uma qualquer temperatura abaixo de 0°C, normalmente - 20°C.
- Outra, em que, água ligada é a quantidade de água no sistema que não está disponível como solvente.

Através duma abordagem pela ressonância magnética nuclear (RMN) ou por análise térmica diferencial (ATD) a água ligada pode ser determinada pela medição da água que não é congelável a temperaturas abaixo da temperatura de congelação. O uso das propriedades dieléctricas da água na determinação do conteúdo de água ligada é também referenciado em Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado (1996).

## 2.1 Actividade de água

A estabilidade química e microbiológica dos alimentos e consequentemente o seu tempo de vida útil, não está directamente relacionado com o seu teor de água mas sim com a actividade de água ( $a_w$ ). A actividade de água representa a medida do grau de ligação da água no alimento e consequentemente esta água não está disponível para actividade química ou microbiológica (Sikorski, 1997).

Apresenta-se a actividade de água pela equação 1. A definição de actividade de água encontra-se nos termos de uma das formas em que esta pode ser medida. É definida como a razão entre a pressão de vapor parcial dentro ou à volta do alimento e a pressão de vapor da água pura à mesma temperatura (Sikorski, 1997).

A fórmula para o cálculo da actividade de água é:

$$A_w = p / p_0 \quad \text{Eq. 1}$$

$A_w$  - a actividade de água

$p$  é a pressão parcial de vapor no alimento

$p_0$  é a pressão de vapor para a água pura à mesma temperatura.

A actividade da água é um factor chave no crescimento microbiológico, na produção de toxinas e reacções enzimáticas e não enzimáticas. Sabendo que a maioria das bactérias não se desenvolve a valores de actividade de água abaixo de 0,90, este valor passou a ser usado como parâmetro de regulação nos Estados Unidos pela Food and Drug Administration para os alimentos enlatados (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996).

Na maioria dos alimentos, a actividade de água varia entre os valores de 0,7 e 1,0 (Blahovec and Yanniotis, 2007).

Alimentos com actividade de água abaixo de 0,6 são estáveis em relação ao crescimento microbiológico e são classificados como alimentos desidratados (Jatindra Sahu and Tiwari, 2007).

A desidratação é a forma mais antiga da preservação de alimentos que se conhece, temos como exemplo, a secagem ao sol de carne e peixe que são referenciadas do início da história registada. A secagem promove a remoção de água, tornando-a indisponível para o crescimento microbiológico (Sikorski, 1997).

A salga, que acaba por possuir o mesmo efeito que a secagem, uma vez que uma solução saturada de sal comum possui um valor de actividade de água perto de 0,75, adicionando sal em quantidades suficientes aos alimentos, a actividade de água pode ser reduzida para um nível para o qual a maioria das bactérias patogénicas é inibida, ainda que o conteúdo de água permaneça alto (Sikorski, 1997).

## **2.2 Fenómeno de sorção e isotérmicas de sorção**

A estabilidade física, química e microbiológica dos alimentos que são submetidos a secagem para a sua preservação, é em grande parte o garante da qualidade destes alimentos preservados por secagem. Esta estabilidade é uma consequência da relação entre o conteúdo de humidade (EMC) em equilíbrio com o material alimentar e a correspondente actividade da água ( $a_w$ ) a uma dada temperatura (Peng et al., 2007).

A relação entre o conteúdo em água de um material (usualmente por peso seco) e a actividade de água a uma temperatura constante determina as isotérmicas de sorção (Blahovec and Yanniotis, 2007).

As isotérmicas de sorção, são muito úteis na previsão do tempo de vida de um alimento, na selecção das condições de armazenamento, na selecção de materiais de embalagem apropriados, na preparação de operações que envolvam a remoção de água (secagem), no desenho dos equipamentos usados na secagem e no cálculo de constantes termodinâmicas como a entalpia de sorção e a entropia de sorção (Blahovec and Yanniotis, 2007).

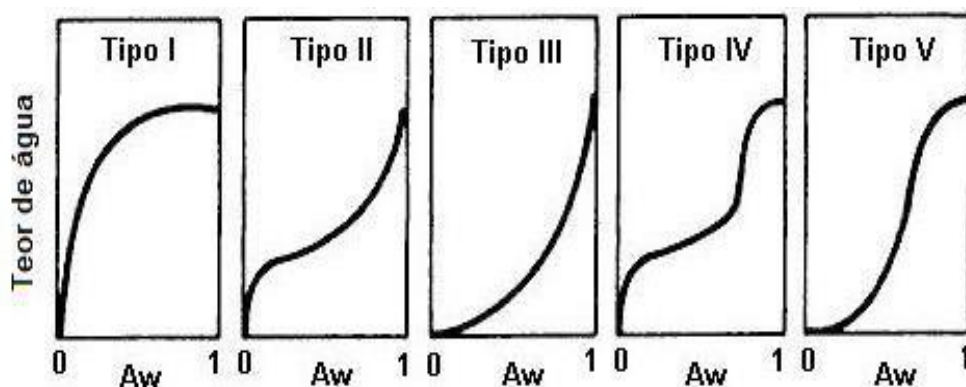
As isotérmicas de sorção podem assumir duas formas, isotérmicas de adsorção e isotérmicas de desorção. As isotérmicas de adsorção são obtidas quando a pressão de vapor aumenta e as isotérmicas de desorção, quando a pressão de vapor diminui (Włodarczyk-Stasiak and Jamroz, 2008).

No estudo de produtos higroscópicos utilizam-se as isotérmicas de adsorção. Para o estudo dos processos de secagem são usadas as isotérmicas de desorção (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996).

Quer os processos de adsorção quer os processos de desorção não são totalmente reversíveis uma vez que fenómenos variados e reacções químicas ocorrem a nível do absorvente (Włodarczyk-Stasiak and Jamroz, 2008).

A sorção de água é um fenómeno que começa pela formação de uma monocamada sobre a superfície do produto e é seguida pela adsorção de água em multicamadas. A adsorção de água na multicamada consiste na entrada de água nos poros e espaços capilares, na dissolução de solutos e no aprisionamento mecânico de água. Estas fases podem ser sobrepostas e diferem entre alimentos, dependendo da sua composição e estrutura (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996).

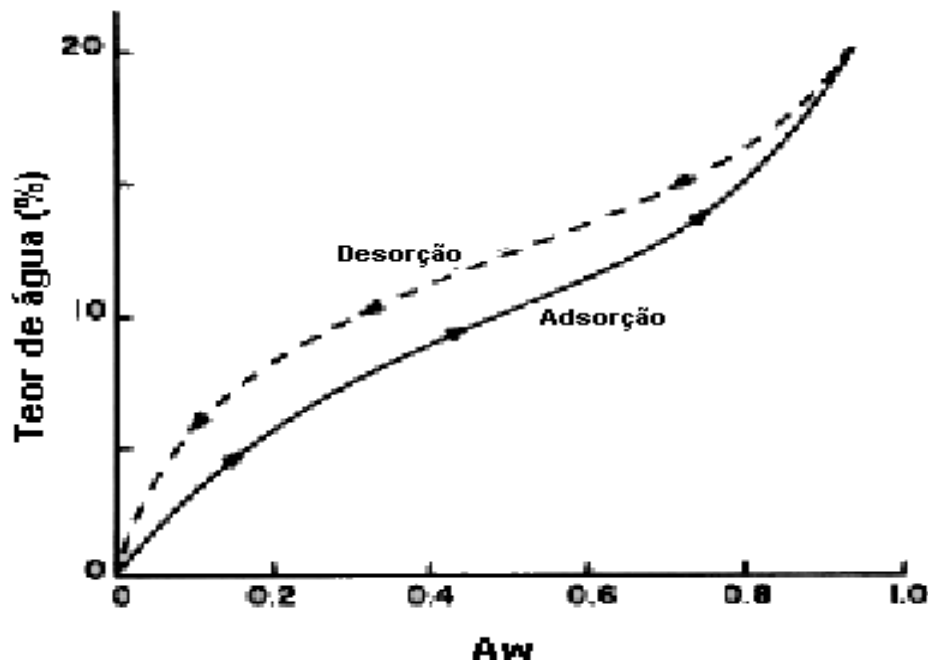
Com base na adsorção de Van der Waals de gases em variados substratos sólidos, Brunauer estabeleceu uma classificação para as isotérmicas de adsorção (Brunauer et al. 1938), em cinco tipos generalizados de isotérmicas (Figura 11). A maior parte das isotérmicas dos materiais biológicos foram classificadas como isotérmicas do tipo II, como manifestação de uma curva não linear, de forma sigmoidal (McMinn and Magee, 2007).



**Figura 11:** Tipos de isotérmica segundo a classificação estabelecida por Brunauer (imagem adaptada de: <http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/059/imgs/f12p58.gif>).

### 2.3 Fenómeno de histerese

O termo histerese descreve o fenómeno visível pelo facto de as isotérmicas de adsorção e de desorção serem diferentes (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996). Na Figura 12 encontram-se representadas as isotérmicas de adsorção e desorção para um sistema alimentar, sendo visível o fenómeno de histerese.



**Figura 12:** Isotérmicas de adsorção e desorção para um sistema alimentar (imagem adaptada de: [http://fst.osu.edu/olympiad/Laboratories/Olymp/Lab%201\\_WaterActivity.htm](http://fst.osu.edu/olympiad/Laboratories/Olymp/Lab%201_WaterActivity.htm)).

A causa para a histerese é a natureza e estado dos componentes dos produtos alimentares, da sua estrutura e conformação que pode diminuir a disponibilidade dos grupos polares a altos valores de conteúdos de humidade nos produtos, para ligação de moléculas de água (Włodarczyk-Stasiak and Jamroz, 2008).

O efeito da temperatura na magnitude da histerese é diferente para diferentes alimentos, inclusive para alguns alimentos o fenómeno pode ser eliminado pelo aumento da temperatura, embora em outros casos possa permanecer constante ou até aumentar com o aumento da temperatura (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996).

## 2.4 Modelização das isotérmicas de sorção

As isotérmicas de sorção são determinadas experimentalmente com medições prolongadas no tempo até que o equilíbrio entre o material e o vapor de água seja alcançado. Estas experiências são não só demoradas e difíceis como os dados fornecidos são também dados inexactos, especialmente para os valores de alta actividade de água onde uma pequena mudança na força motriz da transferência de massa resulta numa grande mudança nos valores do teor de água. O perigo da obtenção de resultados inexactos para actividades de água mais elevadas torna-se ainda maior devido ao longo tempo necessário para se encontrar o equilíbrio, que leva à proliferação microbológica (Blahovec and Yanniotis, 2007).

Podem-se prever as propriedades da sorção da água em alimentos através das equações das isotérmicas de sorção de água. Na literatura encontram-se muitas equações empíricas e semi-empíricas descrevendo as características da sorção de água em alimentos Labuza (1975) atribuiu isto ao facto de a água estar associada à matriz dos alimentos por diferentes mecanismos para diferentes valores de actividade da água (Peng et al., 2007).

Existem modelos teóricos baseados numa monocamada (modelo BET) e modelos cinéticos baseados numa multicamada e filme condensado (modelo GAB); modelos semi-empíricos (modelo Ferro-Fontan, modelo Henderson e modelo Halsey); modelos empíricos (modelo Smith e modelo Oswin) (Peng et al., 2007).

O modelo BET (Brunauer, Emmet, Teller) (Eq. 2) é um modelo com dois parâmetros e é limitado a actividades de água abaixo de 0,4 – 0,5 (Blahovec and Yanniotis, 2007).

O modelo pode ser representado na seguinte forma:

$$\frac{aw}{(1 - aw)M} = \frac{1}{MmCb} + \frac{(Cb - 1)}{MmCb} aw \quad \text{Eq. 2}$$

$a_w$  é a actividade de água

$M$  é o teor de água (g água/g peso seco)

$M_m$  é o valor da monocamada (g água/g peso seco)



$C_b$  é um parâmetro do modelo – constante de energia – relacionada com a energia de sorção da monocamada.

O modelo GAB (Guggenheim, Anderson de Boer) (Eq. 3) é uma extensão da equação de BET (Eq. 2) tendo em consideração as diferentes prioridades da água absorvida na região da multicamada.

O modelo GAB é reconhecido como o melhor para o ajuste de isotérmicas de sorção para a maioria dos produtos alimentares. Este modelo é muito útil na previsão de valores até actividades de água na ordem dos 0,95 e obtém-se um melhor espectro de cobertura do que o modelo BET sobre uma larga escala de valores de teor de água (Barbosa-Cánovas and Vega-Mercado, 1996).

O modelo GAB pode ser representado na seguinte forma:

$$\frac{M}{M_m} = \frac{C_g K a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C_g K a_w)} \quad \text{Eq. 3}$$

$a_w$  é a actividade de água

$M$  é o teor de água (g água/g peso seco)

$M_m$  é o valor da monocamada (g água / g peso seco)

$C_g$  é um parâmetro do modelo – constante relacionada com a diferença de energia de sorção entre as camadas superiores da multicamada e a monocamada.

$K$  é um parâmetro do modelo – constante relacionada com a diferença de energia entre o estado liquido puro da água e as camadas superiores da multicamada, onde deve ser  $K \leq 1$ .

$M_m$ , o valor da monocamada, é um parâmetro específico de cada produto e pode ser considerado como indicador da mobilidade das moléculas de água no sistema alimentar. Este valor providencia uma medida da disponibilidade de locais activos para a ligação da água, sendo geralmente considerado para representar o teor de água óptimo onde ocorrerá a estabilidade química e física de alimentos desidratados (McMinn and Magee, 2007).

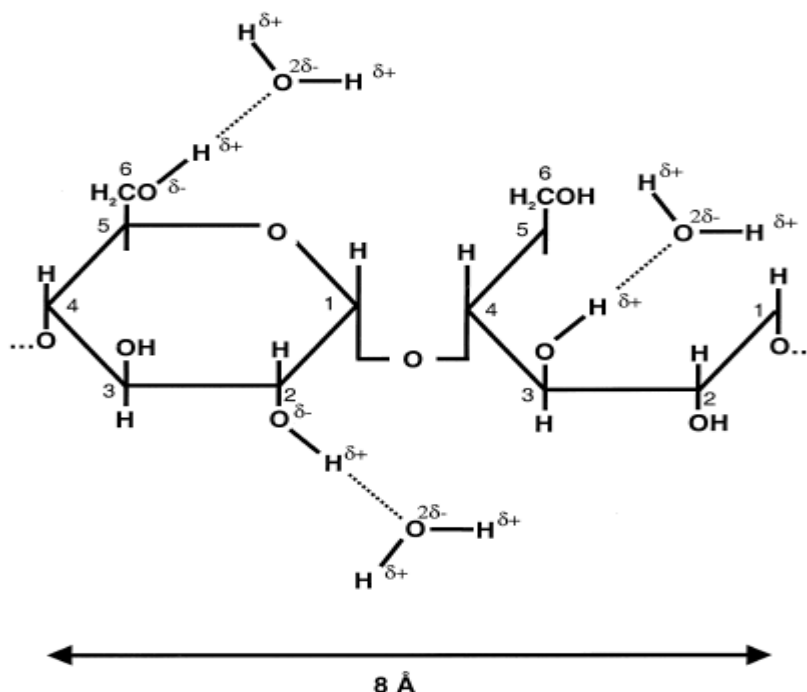
## 2.5 Sorção de água em amido

Os biopolímeros como o amido, a celulose, a hemicelulose adsorvem vapor de água do ar, vapores orgânicos ou vapores de álcoois, fácil e selectivamente (Czepirski et al., 2002).

No caso do amido para baixas actividades de água, as moléculas de água penetram na superfície dos grânulos de amido onde formam uma camada monomolecular, para actividades de água mais elevadas verifica-se a formação de multicamadas sobre a monocamada.

Sistemas com alto conteúdo em amido apresentam isotérmicas sigmoidais características do tipo II (McMinn and Magge, 1997).

A capacidade encontrada no amido para adsorver água resulta da interacção dos grupos hidróxilo livres (grupos – OH) das moléculas de glucose com as moléculas de água. Os grupos hidróxilo interagem com as moléculas de água por pontes de hidrogénio segundo o demonstrado na Figura 13 (Beery and Ladisch, 2001).



**Figura 13:** Pontes de hidrogénio entre as moléculas de água e o amido (Beery and Ladisch, 2001).

Aparecem também referências de que a condensação capilar é responsável por alguma da água adsorvida, contudo Van den Berg et al. (1975)

discorda desta teoria e reivindica que quase toda a humidade adsorvida é sorvida na superfície do amido. O mesmo Van der Berg et al. (1975), propôs que o modelo BET possa estar relacionado com o número de locais de adsorção no amido, uma vez que foi descoberto que o valor da monocamada está fortemente relacionada com o número de grupos polares na superfície do amido que estão aptos para adsorver água (Beery and Ladisch, 2001).

As cadeias de amido, amilose e amilopectina, ligam água por pontes de hidrogénio, no entanto as estruturas de amilopectina aprisionam fisicamente moléculas de água na sua matriz de cadeias ramificadas na porção amorfa do amido. As moléculas de água ao serem aprisionadas desta forma, levam a que os grupos hidróxilo mais próximos se liguem por pontes de hidrogénio a esta água aprisionada, estando por isso indisponíveis para ligações de hidrogénio adicionais. A estrutura ramificada da amilopectina possui grupos hidróxilo sobrepostos pelo que um amido rico em amilopectina possui hipoteticamente uma grande capacidade de adsorção (Beery and Ladisch, 2001).

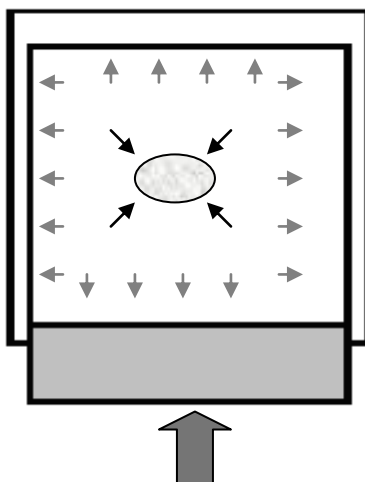
### **3. Tratamento por Alta Pressão**

As tendências alimentares dos consumidores estão a mudar cada vez mais, procurando estes alimentos minimamente processados, livres de aditivos, estáveis no armazenamento, com alta qualidade e com aparência de frescos. Por esta razão a indústria alimentar está a ajustar-se a esta nova mudança explorando outro tipo de tratamentos como alternativa aos métodos tradicionais evitando assim o uso de aditivos e tornando menos extremos os processos. Estes são deste modo factores crescentes com cada vez mais importância na conservação de alimentos (Rahman, 1998).

Para garantir a segurança e qualidade dos alimentos e para dar resposta às exigências de mercado é necessário que haja uma evolução substancial das técnicas tradicionais de conservação ou então no uso das “técnicas emergentes”. Há alguns anos surgiu a tecnologia de alta pressão hidrostática, sendo uma das tecnologias mais promissoras para dar resposta a este tipo de requisitos. Esta tecnologia tem aplicações há muito tempo na produção de cerâmica, aço e super-metais (Rahman, 1998).

A alta pressão tem sido objecto de investigação nas duas últimas décadas, na preservação e no processamento de alimentos, como uma alternativa ao tratamento clássico por temperatura. A crescente demanda de alimentos com valor nutricional cada vez mais alto e com as suas propriedades funcionais e organolépticas praticamente inalteradas tem sido o grande estimulador para esta investigação (Sablani et al., 2007).

O princípio isostático do processamento por alta pressão é simples e baseia-se no produto alimentar ser comprimido por uma pressão uniforme em todas as direcções e quando esta pressão é libertada retorna à sua forma original (Rahman, 1998) (Figura 14).



**Figura 14:** Representação esquemática do princípio isostático do processamento por alta pressão (Rahman, 1998).

O tratamento por alta pressão não é dependente da geometria e do tamanho do produto sendo o seu efeito uniforme e instantâneo (Rahman, 1998).

Qualquer reacção, mudança de conformação ou transição de fase que forem acompanhadas por uma diminuição no volume serão favorecidas a altas pressões, enquanto as reacções em que existe um aumento de volume serão inibidas a altas pressões (Rahman, 1998).

Sistema de alta pressão: em que consiste? Consiste num vaso de alta pressão, com sistema de fecho apropriado ao vaso, pelo sistema gerador de pressão, um dispositivo de controlo de temperatura e o sistema de manipulação de material.

Estando o material colocado no vaso e encerrado, este é cheio com um meio transmissor de pressão. O ar é removido do vaso por meio de uma bomba de baixa pressão que enche e drena, em combinação com um sistema automático de desarejamento, sendo assim gerada a alta pressão. A alta pressão pode ser gerada por compressão directa ou indirecta e também por aquecimento do meio de pressão (Rahman, 1998).

A *compressão directa* é gerada pressurizando o meio com um pistão. Este método de compressão directa permite uma pressurização muito rápida, mas tem limitações como a da selagem de alta pressão entre o pistão e a superfície interna do vaso, que restringe o uso deste método a sistemas piloto ou a sistemas de baixo diâmetro (Rahman, 1998).

A *compressão indirecta* usa um intensificador de pressão que bombeia um fluido sob pressão desde um reservatório até um vaso de alta pressão fechado até que a pressão que se pretende seja alcançada. O método de compressão indirecta é usado pelos sistemas de pressurização isostática mais industriais (Rahman, 1998).

### **3.1 Tratamento por Alta Pressão de Alimentos**

Os primeiros estudos que avaliaram o efeito da pressão hidrostática sobre microorganismos em alimentos foram realizados na França, por Certes, em 1884, e nos Estados Unidos, por Hite, entre 1899 e 1914. A partir de então, outros pesquisadores têm se dedicado ao estudo da alta pressão em alimentos (Cheftel, 1995).

Após uma pressurização a 680 MPa durante 10 minutos, Hite verificou que ocorria uma redução significativa no número total de bactérias no leite, levando a um aumento do seu tempo de vida de prateleira. Em 1914, Bridgman descobriu que a albumina do ovo coagula a alta pressão (Rahman, 1998). Em Abril de 1990, o primeiro produto alimentar tratado por alta pressão foi introduzido no mercado japonês sendo este uma geleia ácida (Rahman, 1998). Na Europa, o processamento por alta pressão de alimentos está em grande desenvolvimento. A pesquisa fundamental e aplicada nesta área é realizada em muitas instituições (Oliveira and Oliveira, 1999).

Na Polónia, a pesquisa na preservação de alimentos por alta pressão foi iniciada em 1992, pelo Centro de Pesquisa de Alta Pressão da Academia Polaca de Ciências. No início, um grupo de pesquisa interdisciplinar foi criado, onde estavam incluídas 14 universidades e institutos de pesquisa (Oliveira and Oliveira, 1999).

O primeiro programa desenvolvido dedicado ao processamento por alta pressão de produtos de fruta e o desenvolvimento de processadores de alta pressão para alimentos começou pela UNIPRESS em 1993 com cooperação próxima do Instituto Nacional de Higiene Polaco. Este projecto foi continuado e alargado em cooperação com a Universidade de Agricultura de Warsaw, com o Instituto da Agricultura e Biotecnologia Alimentar e com a Universidade de Olsztyn de Agricultura e Tecnologia (Oliveira and Oliveira, 1999).

Algumas das aplicações industriais iniciais da tecnologia de alta pressão em alimentos estão apresentadas em baixo na tabela 2.

**Tabela 2:** Alguns produtos alimentares tratados por alta pressão (Rahman, 1998).

Produto	Condições de processamento	Embalagem	Companhia
Sumos de fruta	450 MPa, 90seg	-----	Copa
Compotas			
Condimentos de fruta	400 MPa, 20°C	Copos de plástico	Meidi-ya
Molhos de frutas	10-30min	(100-125g)	
Geleias de frutas			
logurtes			
Sumos de uva	120-400 MPa, 20°C 2-20min	Garrafa de vidro (200g-800g)	Pokka
Sumos de <i>Mandarin</i>	300-400 MPa, 20°C 2-3min	Garrafa de vidro (500g)	Wakayama
Bolo de arroz	300-400 MPa, 20°C 2-3min	Copos de papel (130g)	Echigo Seika

Muitos dos produtos apresentados nesta tabela, são alimentos ácidos, sendo deste modo um factor de segurança intrínseco; alguns são também

armazenados e vendidos refrigerados, o que permitirá retardar as reacções de oxidação (Rahman, 1998).

Nos Estados Unidos da América e na Europa os desenvolvimentos do uso da alta pressão em alimentos estão a ser realizados no âmbito da pasteurização dos produtos de fruta, produtos derivados do leite, da carne, do peixe, das refeições prontas a consumir e outros. Actualmente no México é produzido um produto típico chamado *guacamole*, onde a tecnologia de alta pressão é usada (Rahman, 1998).

Além das vantagens da aplicação da alta pressão em alimentos e aos seus constituintes fornecidas pela literatura científica, que incluem efeitos nas taxas de reacção e nos volumes de reacção, na permeabilização de membranas e a influência na transição de fases, a transmissão instantânea da alta pressão aos sistemas alimentares e a consequente independência do tamanho e forma das amostras, representa a maior vantagem sobre o processamento térmico convencional, onde o tamanho e forma do alimento podem ser factores limitantes. Esta independência da forma e do tamanho das amostras reduz não só a severidade do processo permitindo assim obter qualidades superiores, como também aumentar a flexibilidade e revolucionar o processamento alimentar tornando obsoletos os requerimentos para a redução de tamanho (Oliveira and Oliveira, 1999).

Outra vantagem importante da aplicação da alta pressão é a possibilidade de se poderem realizar processamentos à temperatura ambiente como também a temperaturas mais baixas. Existem indicações de que processar a temperaturas abaixo de zero pode ser mais eficaz na inactivação de enzimas e microorganismos. Processar a temperaturas baixas pode ajudar a reter a funcionalidade e qualidade nutricional das matérias-primas (Oliveira and Oliveira, 1999).

Um resumo das vantagens e limitações do tratamento por alta pressão relacionado com o processamento alimentar é apresentado na Tabela 3.

**Tabela 3:** Vantagens e limitações do processamento alimentar por alta pressão (Oliveira and Oliveira, 1999).

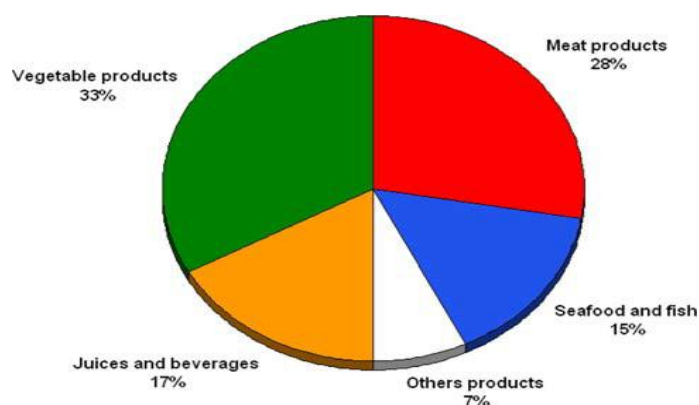
<b>Tratamento</b>	<b>Vantagens</b>
Resposta instantânea	Distribuição imediata através do produto (na ausência de gases)
Distribuição uniforme	Independência do tamanho e geometria das amostras
Temperatura ambiente/ temperaturas baixas	Diminuição da redução/perda de qualidade causada pela temperatura
As aplicações afectam (directamente) na maior parte, ligações não covalentes	Retenção de qualidade (ex., aroma, coloração, nutrientes)
Aumento das taxas de reacção	Aumento das taxas de bioconversão; aumento da produção de metabolitos; melhoramento dos processos de separação
Afectação da transição de fase	Desenvolvimento de processos e produtos (ex., gelificação, cristalização)
Desgasificação	Aumento da transferência de calor, redução da oxidação
Permeabilização de membranas	Auxilia os processos de separação
Tecnologia livre de desperdícios	Processo amigo do ambiente
Compressão de volume	Compactação, moldação, cobertura
Afectação da actividade enzimática	Preservação de alimentos
Afectação da actividade microbiana	Preservação de alimentos
Difere dos efeitos térmicos	Processo selectivo/desenvolvimento de produtos (ex., gelificação induzida por pressão)
Aquecimento adiabático	Efeito adicional da temperatura
Redução de pH	Efeito adicional do pH
<b>Tratamento</b>	<b>Limitações</b>
Permeabilização de membranas	Reacção de stress (plantas, microorganismos), efeitos na textura
Actividade enzimática residual	Efeitos na qualidade
Inactivação microbiana incompleta	Efeitos na segurança e na qualidade
Promoção de reacções	Efeitos na qualidade (ex., acastanhamento enzimático)
Efeito da temperatura	Aquecimento adiabático, calor de fusão
Efeitos do volume	Compressão da água

### 3.2 Efeitos do tratamento por alta pressão em alimentos

Os efeitos dos tratamentos por alta pressão no processamento de alimentos é uma área com interesse comercial. O processamento de alimentos



por alta pressão tem vindo a aumentar devido a relatos dos efeitos benéficos nas biomoléculas. A alta pressão pode desnaturar proteínas, solidificar lipídios e alterar biomembranas, pode modificar a estrutura de proteínas e músculo, afectar a gelatinização do amido, o rearanjo das formas polimórficas nos lipídios, inactivar microorganismos e induzir modificações químicas a baixas temperaturas (Ledward, 1995). Não se podem prever facilmente os efeitos dos tratamentos por alta pressão devido à complexidade dos alimentos e à possibilidade de poderem ocorrer alterações e reacções sobre pressão como focado atrás. No entanto, desde as investigações pioneiras de Hite, no fim do século 19 e especialmente nas ultimas décadas, tem-se vindo a registar um volume muito grande de informação sobre os factos registados dos efeitos da alta pressão em sistemas alimentares. Assim, embora a alta pressão apareça como uma técnica de preservação, tem enorme potencialidade como uma ferramenta de modificação e melhoramento da textura dos alimentos. (Grant et al, 2000). Sem dúvida que é na preservação de alimentos a maior fatia da utilização comercial da alta pressão hidrostática relacionada com sistemas biológicos e que tem vindo a aumentar nos últimos 10 anos. Informações em 2009 reportavam 128 instalações industriais existentes, com volumes de operação desde 55 a 420 litros e com um total de produção anual de cerca de 200,000 toneladas. Na figura 14 temos a representação esquemática da aplicação da pressão em alimentos. Quase metade é utilizada em carne, productos cárneos, marisco e peixe. O resto são produtos vegetais e diferentes tipos de sumos de frutos.



**Figura 15:** Utilização da alta pressão como preservação nos diferentes segmentos da indústria (Heinz and Buckow, 2009)

Portanto, a tecnologia de alta pressão é provável que se torne numa tecnologia altamente promissora neste século 21, uma vez que cada vez mais, aumenta o volume de consumidores que pretendem os alimentos o mais natural possível.

### **3.2.1 Efeito da alta pressão sobre os microorganismos**

Os alimentos são sistemas complexos que contêm uma microbiota altamente diversificada. A inactivação microbiana é um dos principais atributos da aplicação da tecnologia de alta pressão a alimentos. Existem registos que demonstram a inactivação de microorganismos pela aplicação de alta pressão, prolongando assim, deste modo, o tempo de prateleira e melhorando a segurança microbiológica de produtos alimentares. Ficou também demonstrado que esporos requerem condições mais extremas de pressão e temperatura e tratamentos mais longos para serem inactivados (Sale et al., 1970). A aplicação de alta pressão pode causar danos à fisiologia microbiana e sua viabilidade, tanto danificando as células como as inactivando. A qualidade e tempo de vida dos produtos alimentares está em relação muito estreita com as propriedades dos microorganismos que contaminam os alimentos.

Dos processos tradicionais, sabemos que o número de microorganismos inicialmente presentes num alimento é reduzido consideravelmente pela esterilização e a pasteurização por aquecimento, mas as qualidades do alimento são alteradas de forma significativa, quer nas suas características nutricionais quer nas sensoriais (Rahman, 1998).

A alta pressão hidrostática leva a numerosas alterações na morfologia, nas reacções bioquímicas, nos mecanismos genéticos, na membrana e parede dos microorganismos, estando todos estes processos relacionados com a inactivação dos mesmos (Hamada et al. 1992), e pode ser utilizada para reduzir o número de microorganismos sem a elevação da temperatura, permitindo manter as características nutricionais e sensoriais do alimento (Rahman, 1998).

A sensibilidade dos microorganismos à pressão varia consoante o tipo de microorganismo (Rahman, 1998). Na Tabela 4 encontra-se resumida a informação relativa à inactivação de microorganismos vegetativos e esporulados.

**Tabela 4:** Registos das pressões às quais microorganismos vegetativos e esporulados são inactivados (Rahman, 1998).

Pressão de inactivação	
Microorganismos vegetativos	400-600MPa
Microorganismos esporulados	>1000MPa (à T <sub>ambiente</sub> )

O mecanismo principal de destruição dos microorganismos com alta pressão é baseado na destruição da membrana celular microbiana causada por mudanças no volume da célula (Oliveira and Oliveira, 1999).

Estudos realizados confirmaram uma variação significativa na sensibilidade à pressão entre bactérias Gram positivo e Gram negativo. As bactérias Gram positivas são mais resistentes aos efeitos da alta pressão do que as Gram negativas. A parede celular das bactérias Gram positivas é única e consiste de uma camada espessa, quando comparada com a estrutura das Gram negativas. A rigidez da parede celular confere fragilidade à estrutura em função da pouca flexibilidade frente à aplicação da alta pressão (Campos, Dosualdo e Critianini, 2003). Foi por exemplo constatado que para a inactivação de esporos de *Bacillus cereus* tem que se fazer um tratamento combinado entre alta pressão e temperatura (Oliveira and Oliveira, 1999).

### 3.2.2 Efeito da alta pressão nas reacções químicas e bioquímicas

A aplicação de pressão influencia as reacções bioquímicas tendo em conta que a maioria dessas reacções envolvem uma mudança no volume. Hoover relatou que a pressão afecta as reacções aparentemente de duas maneiras: reduzindo o espaço molecular disponível e aumentando reacções inter-cadeias (Rahman, 1998).

Sendo assim, as reacções envolvidas na formação de ligações de hidrogénio são favorecidas por alta pressão desde que as ligações resultem numa diminuição no volume. Contudo, Masson apresentou resultados que indicam que as ligações de hidrogénio são insensíveis à pressão (Rahman, 1998).

A alta pressão pode conduzir à desnaturação das proteínas. A desnaturação das proteínas é um fenómeno complexo que depende da estrutura

da proteína, da gama de pressão, da temperatura, do pH e da composição do solvente.

A pressão pode afectar a estrutura secundária, terciária e quaternária das proteínas. Os alvos principais da pressão são as ligações electrostáticas e hidrofóbicas nas moléculas de proteína. A alta pressão causa desprotonação dos grupos carregados, rompimento das pontes salinas e ligações hidrofóbicas. Deste modo resultam alterações conformacionais e de estrutura das proteínas. As transições de estrutura são acompanhadas por grandes alterações na hidratação (Rahman, 1998).

Outro dos componentes dos alimentos que pode ser afectado por alta pressão são os lípidos (Rahman, 1998).

A aplicação de alta pressão hidrostática acompanhada com temperaturas moderadas ou elevadas pode influenciar as reacções químicas inerentes aos sistemas alimentares tais como as reacções de Maillard. Alguns estudos sugerem uma ligação entre os tratamentos por pressão e as reacções de Maillard. Tamaoka et al. (1991) referiram que o acastanhamento não enzimático é inibido a pressões entre 200-400 MPa em sistemas de xilose-lisina (pH 8,2) quando aquecidos a 50°C (Rahman, 1998).

### **3.2.3 Efeito da alta pressão nas reacções enzimáticas**

Enzimas são uma classe especial de proteínas nas quais a actividade biológica surge a partir de um sítio activo mantido pela conformação tri-dimensional da molécula. Pequenas mudanças no sitio activo podem levar a uma perda da actividade da enzima. Como a desnaturação da proteína é associada a alterações conformacionais, a funcionalidade da enzima pode ser alterada, ou seja, pode haver aumento ou perda da actividade biológica. (Hendrickx et al., 1998). Enzimas relacionadas com a qualidade dos alimentos, podem ser desactivadas por submissão a alta pressão. A pressão necessária para tal depende fortemente da enzima (Cano et al., 1997).

Os efeitos da alta pressão sobre enzimas podem ser divididos em duas classes. Na primeira, pressões relativamente baixas (~100 MPa) têm mostrado activação de algumas enzimas. Este efeito de estimulação é, entretanto, sómente

observado em enzimas monoméricas. Por outro lado, pressões muito maiores, geralmente induzem à inativação enzimática. Tem sido sugerido que a eficiência da inativação enzimática por alta pressão é melhorada pela aplicação de ciclos de pressão. Aplicações sucessivas de alta pressão resultaram em alta inativação de muitas enzimas (Campos, 2003).

A inativação por pressão das enzimas é influenciada pelo pH, concentração de substrato, estrutura da enzima e temperatura durante a pressurização (Rahman, 1998).

### **3.2.4 Efeito da alta pressão nas propriedades funcionais**

As propriedades funcionais das moléculas biológicas são usualmente dependentes da conformação e das alterações conformacionais. As interações entre as moléculas de solvente e soluto e as interações intermoleculares e intramoleculares do soluto são influenciadas quando sujeitos a pressão. Por conseguinte o tratamento a alta pressão pode provocar alterações benéficas ou prejudiciais (Rahman, 1998).

As mudanças de fases nas proteínas e lípidos por aplicação de alta pressão têm sido monitorizadas, já que estas modificações oferecem novas oportunidades para o desenvolvimento de novos produtos com propriedades reológicas únicas. A estrutura das proteínas e polissacarídeos constituintes dos alimentos podem ser alteradas por tratamento com pressão hidrostática resultando em diferentes propriedades reológicas e sensoriais (Rahman, 1998).

A cristalização de gordura por tratamento com alta pressão hidrostática é outro aspecto interessante, uma vez que foi observada que a cristalização da gordura aumenta com a extensão do tratamento por pressão (Rahman, 1998).

A exposição a alta pressão resulta na alteração da conformação das proteínas. A alteração da conformação causa alterações nas propriedades funcionais das proteínas. As propriedades funcionais das proteínas tais como: capacidade espumante, emulsionante, gelificante e de retenção de água podem ser influenciadas por tratamento com alta pressão. As proteínas tratadas com pressões altas podem conduzir ao desenvolvimento de uma nova gama de ingredientes alimentares funcionais preparados a partir de proteínas alimentares

por desdobramento controlado. Sabe-se que o pH, e a força iónica influenciam a agregação e gelificação das proteínas sob condições de aquecimento; isto também é observado quando as soluções de proteínas são submetidas a alta pressão hidrostática (Rahman, 1998).

### **3.2.5 Efeito da alta pressão nas propriedades sensoriais**

Os efeitos da alta pressão são, semelhantes ao aquecimento em materiais biológicos e alimentos. Por outras palavras a alta pressão é tão útil quanto a alta temperatura. A vantagem do tratamento de alta pressão é que as ligações covalentes são mantidas intactas quando a água é comprimida. Efeitos tais como a reacção de Maillard e a formação de aromas de cozido não ocorrem durante o tratamento por alta pressão. Assim é possível reter o aroma e gosto natural pela aplicação de tratamento de alta pressão em alimentos (High Pressure food, 2006).

A principal vantagem da tecnologia de alta pressão é afectar pouco a composição do alimento e, consequentemente as suas características sensoriais e nutricionais. Geralmente a pressão afecta de forma insignificante as características sensoriais do alimento. No entanto é necessária mais pesquisa para que possa ser feito um sólido julgamento sobre esta questão (Rahman, 1998).

Uma ampla variedade de efeitos e alterações no aroma, textura, aparência física e estrutura podem resultar da aplicação de pressão, e estas alterações dependem do tipo de alimento e da sua composição e estrutura (Rahman, 1998). No entanto estas alterações são sempre de menor efeito que as alterações causadas por tratamentos térmicos.

### **3.3 Efeito da alta pressão sobre o amido**

O amido é um polímero natural, usado extensivamente em produtos alimentares para obter alterações nas suas propriedades reológicas e que gelatiniza, quando aquecido em excesso de água, a temperaturas da ordem dos 65<sup>o</sup> C ou superior dependendo da origem botânica ou de modificação química realizada (Zobel & Stephen, 1995). Nas ultimas décadas, a utilização da alta

pressão como meio de provocar a gelatinização e ou modificações físicas no amido tem sido objecto de investigação. Crê-se que relativamente ao amido a tecnologia de alta pressão poderá trazer novas possibilidades para a sua aplicação em produtos alimentares. Diferentes amidos podem ser gelatinizados por alta pressão à temperatura ambiente e amidos pressurizados apresentam propriedades únicas de gelificação e retrogradação, sendo diferentes das formadas por gelatinização a quente. Por esta razão, os principais esforços têm sido direccionados para o estudo do efeito da alta pressão nas propriedades físicas, químicas e de estrutura do amido (Blaszczac et al., 2005).

O amido tratado por alta pressão apresenta, um aspecto granular intacto ou parcialmente desintegrado, um inchamento limitado dos grânulos, textura mais dura nos géis e uma menor quantidade de amilose libertada (Stolt et al., 2001; Vittadini et al., 2008; Buckow et al., 2009; Vallons and Arendt 2010). Parece que a extensão da gelatinização por alta pressão é altamente dependente do tipo de amido, da concentração de água e das condições de processamento, incluindo níveis de pressão, tempo de tratamento e faixas de temperatura utilizadas (Stolt et al., 2001; Katopo et al., 2002; Bauer and Knorr 2005)

Assim, o tratamento de alta pressão abre um novo caminho para o processamento de amido com uso mínimo de calor. No entanto, estudos mais extensivos são necessários para o entendimento dos efeitos da alta pressão sobre o amido e outros componentes.

As investigações efectuadas sobre o efeito da alta pressão hidrostática no amido podem ser divididas em três categorias:

- Aquelas em que a aplicação de pressão não foi suficientemente elevada para gelatinizar o amido;
- Aquelas em que a aplicação de pressão foi realizada em amido quase seco;
- Aquelas em que foram usados tratamentos por alta pressão (>400 MPa) na presença de excesso de água (Katopo et al., 2001).

Várias estratégias foram já utilizadas para melhorar as propriedades do amido, sendo de referir o processamento térmico e a modificação química. A aplicação da alta pressão hidrostática surge como uma técnica complementar, sinérgica,

como uma técnica de melhoramento no processamento do amido. A maior parte das aplicações utilizando a alta pressão hidrostática no amido, encontram-se no processamento do amido, no entanto, mais de 25 tipos de amido foram investigados utilizando a alta pressão hidrostática, que pode induzir a gelatinização e modificação de alguns amidos. O número elevado de estudos executados sobre amido utilizando a alta pressão hidrostática, indica que a alta pressão hidrostática é efectivamente uma tecnologia com potencial elevado para uma utilização realmente mais efectiva nas aplicações com amido.(Liu, PL et al., 2010).

### **3.3.1 Efeitos da alta pressão na hidrólise enzimática do amido**

A definição do amido como um carboidrato nutricionalmente disponível é baseada na suposição de que as suas macromoléculas formadoras, amilose e amilopectina, sejam facilmente hidrolisadas no trato intestinal, produzindo carboidratos de baixo peso molecular. Efeitos na hidrólise enzimática do amido foram já descritos por alguns investigadores. A resistência do amido à hidrólise enzimática dá origem a produtos que não são absorvidos no intestino delgado, podendo entretanto ser fermentados no intestino grosso (Eerlinger et al., 1995). Estas modificações que levam à resistência da hidrólise, tem implicação na saúde humana, uma vez que o amido vai afectar aspectos de funcionamento intestinal. Estudos feitos por Hayashi e Hayashida (1989) mostraram que os tratamentos a pressões próximas de 500 MPa aumentam a digestibilidade do amido pela  $\alpha$ -amilase (Rubens, 1998). Os tratamentos a 392-490 MPa a temperaturas de 45-50°C aumentam a susceptibilidade do amido milho, trigo e batata à acção da  $\alpha$ -amilase (Rahman, 1998). Em ambos os casos a hidrólise enzimática do amido dá-se à pressão atmosférica, após o tratamento por alta pressão de suspensões de amido em água.

### **3.3.2 Efeitos da alta pressão na gelatinização do amido**

A gelatinização é a transição dos grânulos do amido de um estado cristalino para um estado em que os grânulos estão mais inchados. O amido pode ser gelatinizado usando a pressão ou o calor. A gelatinização térmica do amido

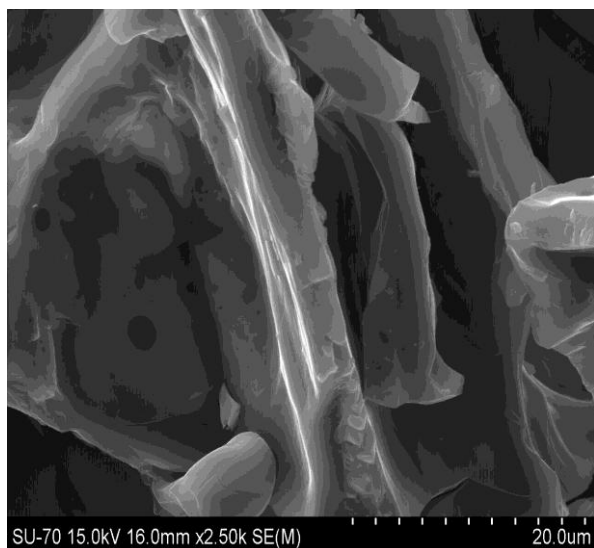


aparece estudada extensivamente na literatura (Copeland et al., 2009). Em suspensões de amido de trigo verificou-se que a gelatinização se iniciava acima dos 300MPa e que ficava completa nos 600MPa. O efeito da alta pressão sobre a gelatinização é devido à estabilização das ligações de hidrogénio, que mantém o grânulo do amido no estado original. Os tratamentos de alta pressão produzem propriedades únicas, que são diferentes daquelas formadas pela gelatinização a calor. Suspensões de amido quando sujeitas a alta pressão hidrostática podem ser gelatinizadas à temperatura ambiente (Sablani et al., 2007). Acredita-se que a tecnologia de alta pressão oferece novas possibilidades para a aplicação do amido em produtos alimentícios: por exemplo, como espessante em produtos crus.

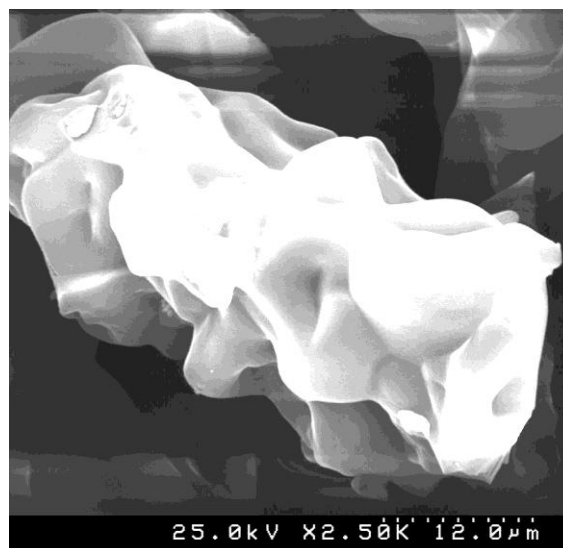
Um mecanismo de dois passos para a gelatinização por alta pressão foi proposto por Rubens et al (1999). Em primeiro lugar, ocorre a hidratação das zonas amorfas dos grânulos de amido, o que conduz ao inchamento dos grânulos e à distorção das regiões cristalinas. Em seguida, as regiões cristalinas tornam-se mais acessíveis à água. Na gelatinização induzida por pressão, diferentes tipos de amido gelatinizam a diferentes valores de pressão e a extensão da gelatinização depende da pressão, tempo de pressurização e temperatura de pressurização (Oh et al., 2008).

Nos diferentes tipos de amido, encontramos diferentes comportamentos à pressão. Verificou-se que os amidos do tipo B, (amido de batata), são mais resistentes ao tratamento por pressão do que os amidos do tipo A e C. Foi também já demonstrado pela difracção de raio-X que o tratamento por alta pressão converte amidos do tipo A em amidos no modelo tipo B, enquanto os amidos do tipo B mantêm a sua estrutura do tipo B original (Oh et al., 2008).

Na figura 16 pode-se ver a microestrutura de amido comercial gelatinizado por reómetro e obtido em microscópio electrónico Hitachi S-1400, na figura 17 a microestrutura de amido tratado a 600 MPa durante 30 minutos obtido em microscópio electrónico Hitachi SU-70, executando microscopia electrónica de varrimento.



**Figura 16:** SEM de amido comercial 20% (H<sub>2</sub>O) - Após gelatinização em reômetro a 90<sup>o</sup> C e liofilizado.



**Figura 17:** SEM de amido comercial 500% (H<sub>2</sub>O) submetido a 600 Mpa 20 min e liofilizado.

## II - Metodologia Aplicada

Para o estudo do efeito do tratamento por alta pressão na ligação de água a amido, é utilizado amido de milho comercial para fins culinários. A escolha deste tipo de amido, centrou-se no facto de ser este o tipo mais abundante e por se saber, que este tipo de amido é sensível a tratamentos por alta pressão, aumentando por isso as probabilidades de alterações nas suas propriedades usando este tipo de tecnologia.

O aparelho, existente no departamento e utilizado para o trabalho é o aparelho Unipressequipment - High Pressure System U33, produzido pelo Institute of High Pressure Physics Unipress Equipment Division em Sokolowska, Varsóvia na Polónia. Este equipamento é do ano de fabrico de 2006, com um vaso de pressão de 100ml, uma pressão máxima de 750 Mpa com uma gama de temperaturas de -20°C a 100°C .

### 1. Estudo da incorporação de água no amido

O objectivo do estudo é determinar a quantidade de água que se conseguirá incorporar no amido, a quantidade de água que se conseguirá reter e tentar estimar o seu grau de ligação ao amido. O princípio a ser usado é o de que, se a água retida for liofilizável concluiremos que estava fracamente ligada ao amido e que se não for liofilizável concluiremos que se trata de água fortemente ligada ao amido.

Para o estudo da incorporação de água, em primeiro lugar procede-se à preparação das amostras. No nosso caso, utilizamos uma relação de água-amido de 1 para 5, ou seja por cada grama de amido adicionamos 5 gramas de água, sendo utilizada água ultra-pura. As suspensões de amido assim preparadas (com um excesso de água de 500%), são agitadas durante uma hora com recurso a placas de agitação IKA RCT Basic a 480 rpm e agitadores magnéticos. Após esta homogeneização as suspensões são transferidas para frascos de plástico já adequados para utilização no vaso da máquina de pressão e que foram devidamente fechados de modo a que ficassem totalmente cheios com o mínimo de ar possível, é verificada a sua estanquidade e são revestidas as tampas com

parafilm para não haver o risco de que alguma aresta das tampas possa romper os sacos plásticos que os envolvem e que vão ser sujeitos a vácuo e selados. Cada um dos frascos foi assim envolvido por um saco plástico feito á medida para o caso, o qual foi sujeito a vácuo e selado.

Processam-se então as suspensões a alta pressão a 20°C.

Depois de pressurizados os sacos contendo os frascos com as amostras são abertos, retiram-se os frascos e as amostras são centrifugadas a 15000 G durante 15 minutos à temperatura ambiente de maneira a quantificar a quantidade de água retida. O sobrenadante e depósito resultantes da centrifugação de cada amostra são transferidos para porta amostras previamente pesados e resistentes à liofilização. Os conjuntos são pesados, congelados em azoto líquido e colocados a liofilizar. A perda de massa de água na liofilização é medida.

A metodologia descrita é a que vai ser usada para as pressurizações a 300 MPa de acordo com o mapa de amostragem representado na tabela 5. As amostras com tempo de pressurização de 0 minutos correspondem aos controlos que seguirão as amostras em todos os passos do processamento excepto no processamento por pressão.

**Tabela 5:** Estudo da incorporação de água.

<b>% Água<sup>(a)</sup></b>	<b>Amido (g)</b>	<b>Água (g)</b>	<b>Nº frascos</b>	<b>Tp<sup>(b)</sup> 300 MPa (min)</b>
<b>500</b>	<b>6</b>	<b>30</b>	<b>5</b>	0
				5
				15
				30
				60

(a) – Percentagem da proporção água:amido;

(b) – Tempo de pressurização.

Tal como foi já referido, com a realização deste teste pretende-se determinar a quantidade máxima de água que uma certa quantidade de amido conseguirá incorporar e saber também se esta água incorporada/retida se encontra fracamente ou permanentemente ligada ao amido.

Este estudo envolve a comparação visual, a centrifugação e a liofilização das amostras pressurizadas a 300 MPa. A utilização desta pressão foi pensada para a fase inicial, uma vez que seria mais acessível e não oferecerá muitas limitações no uso da máquina de pressão, para depois se poder desenvolver trabalho em outras pressões. A massa de água utilizada relativamente à de amido (água:amido) nesta pressurização foi de 500%

## 2. Determinação das isotérmicas de adsorção e desorção

Os valores para o teor de água em função da actividade de água da amostra de amido de milho tratada por pressão e o respectivo controlo serão determinados por gravimetria, na qual o peso da amostra colocada a equilibrar na bateria de sais preparada para o efeito, será monitorizado uma vez por dia até que permaneça constante em duas medições consecutivas.

A bateria de sais (Figura 17) é constituída por 9 recipientes preparados para o efeito contendo soluções saturadas de sais, devidamente selados. Para actividades de água acima de 0,7 foi adicionado um pouco de azida sódica para prevenir o crescimento microbiano. As soluções e as respectivas actividades de água são apresentadas na tabela 6.



**Figura 18:** Fotografia da bateria de sais usada no estudo das isotérmicas de adsorção e desorção.

**Tabela 6:** Sais usados na bateria de sais e respectivas  $a_w$  de acordo com a literatura.

Sal	Aw (20°C)
	Rockland L.B., 1960
Cloreto de lítio	0.12
Acetato de sódio	0.23
Cloreto de magnésio	0.33
Carbonato de potássio	0.44
Brometo de sódio	0.57
Cloreto de sódio	0.75
Cloreto de potássio	0.86
Cloreto de bário	0.91
Fosfato de sódio	0.98

No caso do estudo da isotérmica de adsorção, tanto o amido pressurizado como o controlo da pressurização são usados na forma em que saíram da liofilização, ou seja na forma de amido desidratado. Para 10 frascos de plástico previamente pesados é pesado 0,5 g de amido desidratado. Os frascos são organizados e distribuídos pela bateria de sais, um frasco por cada recipiente da bateria de sais, o frasco restante é colocado em pentóxido de fósforo (dessecante) para servir de controlo. O ensaio é realizado em duplicado. O mesmo procedimento é realizado para o controlo.

No caso do estudo da isotérmica de desorção é preciso humidificar o amido pressurizado e o controlo da pressurização, que foram desidratados pela liofilização, antes de serem distribuídos pela bateria de sais. Essa humidificação faz-se colocando o amido pressurizado e o controlo da pressurização a equilibrar a uma  $a_w$  elevada (0,98) até que o seu peso não varie. Depois de se encontrarem devidamente humidificados, são tratados segundo o procedimento descrito para o estudo da isotérmica de adsorção.

Como já foi referido, a realização deste estudo tem como objectivo saber até que ponto as modificações causadas pela pressurização no amido afectarão a sua interacção posterior com a água.

Este estudo envolve a determinação das isotérmicas de adsorção e desorção de água dos amidos pressurizados e dos respectivos controlos.

### 3. Modelização das isotérmicas de adsorção e desorção

Para a modelização das isotérmicas recorreu-se a 2 modelos matemáticos que são exaustivamente descritos na literatura, o modelo BET e o modelo GAB. Utilizou-se o modelo BET para prever os valores de teor de água por grama de amido, numa gama de actividade de água compreendida entre 0,00 e 0,40 e utilizou-se o modelo GAB para prever os valores de teor de água por grama de amido, numa gama de actividade de água compreendida entre 0,10 e 0,91, como vem referido nas especificações avançadas pela literatura.

A escolha do modelo tem uma importância crucial para se conseguir obter a melhor previsão possível para os tempos de prateleira dos alimentos.

A equação 3 (apresentada anteriormente na página 18), representa o modelo GAB, sendo um dos modelos mais usados para a previsão das isotérmicas, onde  $M_m$  representa o valor da monocamada (g água/g peso seco),  $C_g$  e  $K$  são constantes relacionadas com a diferença de energia de sorção (entalpia de sorção) entre a multicamada e a monocamada e entre o estado líquido da água e a multicamada respectivamente. O valor de  $K$  deve ser próximo de 1 mas inferior a este valor, porque quando  $K$  é igual a 1 o modelo GAB transforma-se no modelo BET (Blahovec 2004).

Assim como já descrito atrás, o modelo BET pode ser representado pela seguinte forma:

$$\frac{aw}{(1-aw)M} = \frac{1}{MmCb} + \frac{(Cb-1)}{MmCb}aw \quad \text{Eq. 2}$$

A partir da equação de BET (Eq. 2) é possível obter o valor dos parâmetros procedendo-se à regressão linear segunda a qual:

$$y = \frac{aw}{(1-aw)M} \quad \text{Eq. 4}$$

$$x = aw \quad \text{Eq. 5}$$

$$m = \frac{(Cb - 1)}{MmCb} \quad \text{Eq. 6}$$

$$b = \frac{1}{MmCb} \quad \text{Eq. 7}$$

Dos valores de  $m$  e  $b$  obtidos é possível então calcular os valores de  $C_b$  e  $M_m$  :

$$Cb = \frac{m + b}{b} \quad \text{Eq. 8}$$

$$Mm = \frac{1}{m + b} \quad \text{Eq. 9}$$

O modelo GAB pode assim ser apresentado na seguinte equação:

$$\frac{M}{Mm} = \frac{CgKaw}{(1 - Kaw)(1 - Kaw + CgKaw)} \quad \text{Eq. 3}$$

A equação do modelo GAB (Eq. 3) pode ser reformulada e colocada na forma de uma equação polinomial de segundo grau de maneira obter o valor dos parâmetros  $K_1$ ,  $C_g$  e  $M_m$ .

Assim, a equação de GAB apresenta-se na forma:

$$\frac{aw}{M} = a(aw^2) + b(aw) + c \quad \text{Eq. 10}$$

Sendo possível realizar a regressão polinomial de segunda ordem :

$$y = \frac{aw}{M} \quad \text{Eq. 11}$$



$$x = aw \quad \text{Eq. 12}$$

$$a = \frac{K (1 - Cg)}{Mm Cg} \quad \text{Eq. 13}$$

$$b = \frac{(Cg - 2)}{Mm Cg} \quad \text{Eq. 14}$$

$$c = \frac{1}{Mm Cg K} \quad \text{Eq. 15}$$

Depois de determinados os valores de a, b e c é possível determinar os valores dos parâmetros :

$$c(K)^2 + b(K) + a = 0 \quad \text{Eq. 16}$$

$$Cg = \frac{b}{c K} \quad \text{Eq. 17}$$

$$Mm = \frac{1}{b + 2c(K)} \quad \text{Eq. 18}$$

Obtendo os valores das constantes de ambos os modelos, é possível obter uma previsão para os valores de teor de água por grama de amido para cada isotérmica. Esta previsão é executada, substituindo nas equações dos modelos, os valores das constantes e o valor de actividade de água para a qual se pretende a previsão do valor, calculando assim para cada valor de actividade de água o respectivo valor do teor de água por grama de amido.

### **III - Análise e discussão dos resultados**

De maneira a otimizar o registo e tratamento dos resultados experimentais, apresenta-se os resultados expostos da seguinte maneira.

Uma parte descreve os resultados obtidos para o estudo da incorporação de água em amido pressurizado a 300 MPa nos diferentes tempos de pressurização.

Outra parte descreve os resultados obtidos para o estudo das isotérmicas de adsorção e desorção de água de amido pressurizado a 300 MPa.

Procedeu-se à submissão de alguns amidos liofilizados ao FTIR e a observação ao microscópico electrónico de amidos liofilizados sujeitos a diferentes pressões, para comparação.

#### **1. Estudo da incorporação de água**

O pretendido com a realização desta fase, era determinar a quantidade máxima de água que se conseguiria incorporar na quantidade de amido que estabelecemos para esta operação e verificar se a água incorporada, ou seja, a que ficou retida no amido, se encontraria fracamente ligada ao amido ou se encontraria ligada duma forma permanente. O princípio a seguir, será o de que, se a água retida for liofilizável conclui-se que estava fracamente ligada ao amido, se não for liofilizável conclui-se que se trata de água fortemente ligada ao amido.

Na realização deste estudo fez-se a comparação visual, a centrifugação e a liofilização das amostras pressurizadas a 300 MPa.

##### **1.1 Pressurização a 300 MPa**

As massas de água relativamente às de amido (água:amido) estudadas nesta pressurização foram de 500% e foram pressurizadas amostras a 5, 15, 30, e 60 minutos.

Depois de pressurizadas a 300 MPa durante 5, 15, 30 e 60 minutos, verificou-se que existia um excesso de água nas embalagens utilizadas, o que significa que com a pressurização a 300 MPa não foi possível ligar toda a água ao amido. O aspecto visual das amostras era muito semelhante.

A textura das amostras pressurizadas ficam muito diferentes da do controlo, fazendo lembrar um gel, enquanto que o controlo permanece com uma textura

muito próxima da sua forma original, pó de amido em suspensão, como se observou durante o vazamento para os copos de centrifugação.

### 1.1.1 Centrifugação

Depois de tratados por pressão, as amostras foram centrifugadas de maneira a separar a água não ligada do amido. Os resultados obtidos são apresentados na tabela 7.

**Tabela 7:** Registo dos resultados para a centrifugação das amostras da pressurização a 300 MPa.

% Água <sup>(a)</sup>	Tp <sup>(b)</sup> (min)	Água centrifugada <sup>(c)</sup> (g/g <sub>amido seco</sub> )	Água retida <sup>(d)</sup> (g/g <sub>amido seco</sub> )	Água retida <sup>(e)</sup> (g/g <sub>amido seco</sub> )
500%	0	4,3008	0,6992	0,0000
	5	4,2830	0,7170	0,0178
	15	4,2802	0,7198	0,0206
	30	4,2688	0,7312	0,0320
	60	4,2520	0,7480	0,0488

(a) – Percentagem da proporção água:amido;

(b) – Tempo de pressurização;

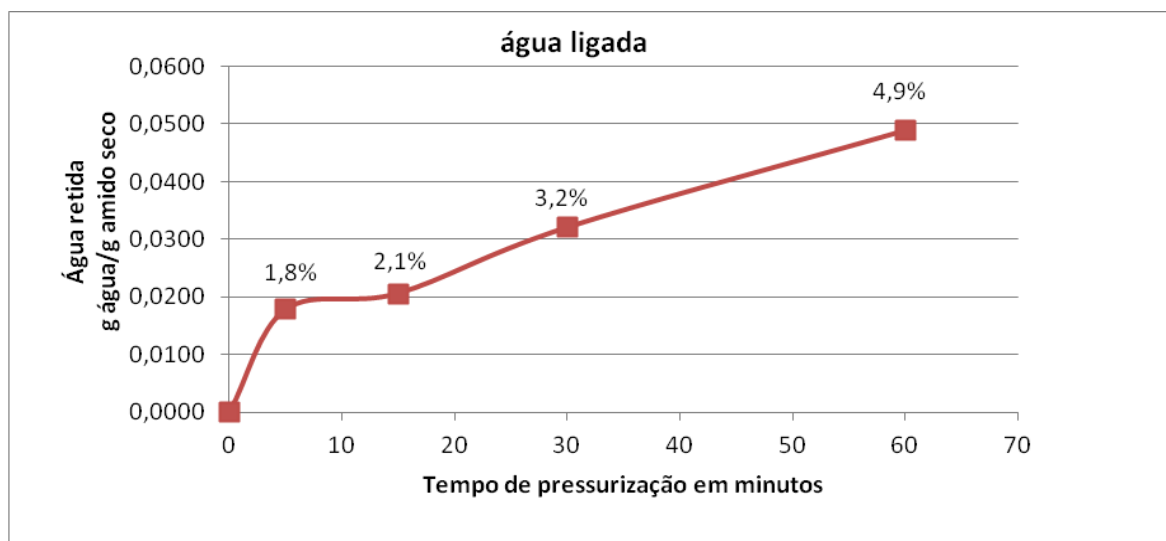
(c) – Valores de água centrifugada por grama de amido seco

(d) – Valores de água retida (não centrifugada) por grama de amido seco

(e) – Valores da água retida (não centrifugada) por grama de amido seco subtraindo o valor do controlo

Os resultados para a centrifugação das amostras descritos na tabela 7 foram representados na forma de água retida por grama de amido seco, subtraindo já o valor da água centrifugada dos controlos às amostras de maneira a expressar unicamente o efeito causado pela pressurização.

Os dados relativos à centrifugação das amostras foram representados graficamente (gráfico 1) que a seguir se apresenta.



**Gráfico 1:** Representação gráfica dos resultados obtidos para a centrifugação

Os valores máximos estimados para a quantidade de água que o amido conseguiu incorporar são dados pelos valores máximos de água retida observados para os diferentes tempos de pressurização. Assim na tabela 8 estão resumidos os valores estimados para o máximo de água que se conseguiu incorporar com recurso à pressurização a 300 MPa para os diferentes tempos de pressurização.

**Tabela 8:** Registo dos valores estimados para o máximo de água que se conseguiu incorporar

% Água <sup>(a)</sup>	Tp <sup>(b)</sup> (min)	Água retida <sup>(c)</sup> (%)
<b>500</b>	5	1,8
	15	2,1
	30	3,2
	60	4,9

(a) – Percentagem da proporção água:amido;

(b) – Tempo de pressurização;

(c) – Valores máximos de água retida.

### 1.1.2 Liofilização

Os resultados a seguir apresentados, dizem respeito à liofilização das fracções de amido e água que ficaram depositadas aquando da centrifugação, uma vez que é para estas fracções que se justifica o estudo. Na tabela 9 estão representados os resultados da liofilização das diferentes amostras em termos de água liofilizada por grama de amido seco, subtraindo já o valor da água liofilizada

dos controlos às amostras de maneira a expressar unicamente o efeito causado pela pressurização.

**Tabela 9:** Registo dos resultados da liofilização das amostras

% Água <sup>(a)</sup>	Tp <sup>(b)</sup> (min)	Água liofilizada <sup>(c)</sup> (g)	Água liofilizada <sup>(d)</sup> (g/g <sub>amido seco</sub> )	Água liofilizada <sup>(e)</sup> (g/g <sub>amido seco</sub> )
500%	0	4,9601	0,7996	0,0000
	5	4,9918	0,8119	0,0191
	15	4,9950	0,8273	0,0277
	30	4,9904	0,8309	0,0399
	60	5,3628	0,8473	0,0477

(a) – Percentagem da proporção água:amido;

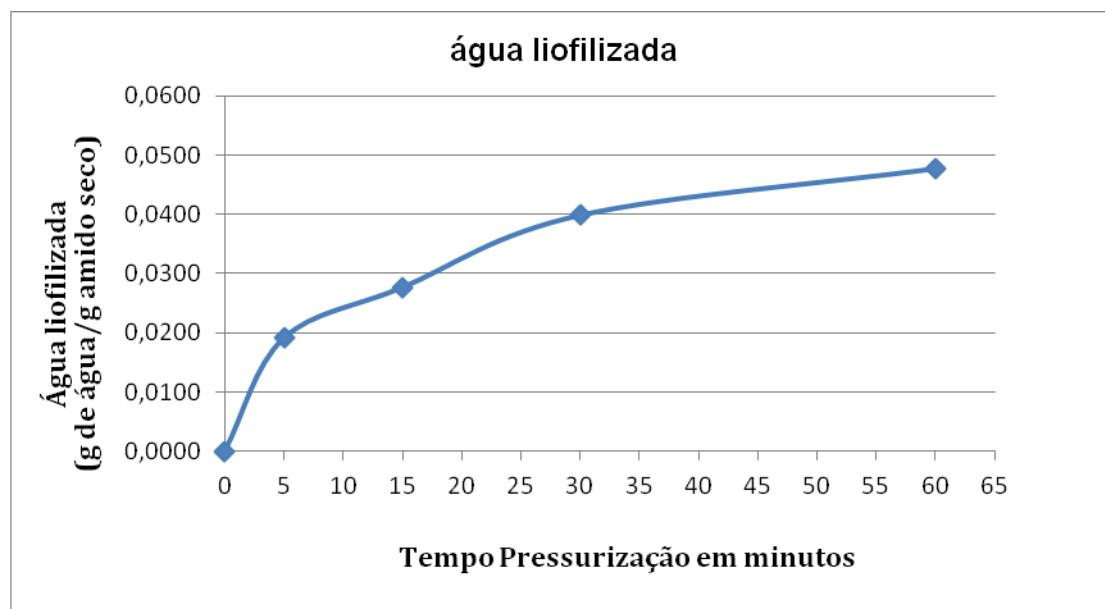
(b) – Tempo de pressurização;

(c) – Valores de água liofilizada em gramas

(d) – Valores de água liofilizada por grama de amido seco

(e) – Valores de água liofilizada por grama de amido seco subtraindo o controlo

Assim como se procedeu para o caso da análise dos dados da centrifugação, os dados obtidos para a liofilização das amostras foram representados graficamente (gráfico 2).



**Gráfico 2:** Representação gráfica dos resultados obtidos para a liofilização

Era expectável que os resultados obtidos na liofilização e os resultados obtidos na centrifugação fossem consistentes, uma vez que a água liofilizada está dependente da quantidade de água que não é centrifugável (água ligada) mas é liofilizável. Verifica-se de facto que as amostras para as quais acontece uma

maior quantidade de água retida são também as que possuem uma maior quantidade de água liofilizada. Verifica-se para os valores de água liofilizada, que nas pressurizações a 5, 15 e 30 minutos este valor é superior ao valor da água retida verificado na centrifugação da amostra, enquanto que na pressurização de 60 minutos, o valor de água liofilizada é menor que o valor da água retida embora muito próximo desse valor, o que poderá indicar que alguma água ficou neste caso mais fortemente ligada ao amido. A comparação para os valores de água retida e de água liofilizada encontra-se na tabela 10.

**Tabela 10:** Comparação dos valores de água retida e da água liofilizada

% Água <sup>(a)</sup>	Tp <sup>(b)</sup> (min)	Água retida <sup>(c)</sup> (g/g <sub>amido seco</sub> )	Água liofilizada <sup>(d)</sup> (g/g <sub>amido seco</sub> )
500%	0	0,0000	0,0000
	5	0,0178	0,0191
	15	0,0206	0,0277
	30	0,0320	0,0399
	60	0,0488	0,0477

(a) – Percentagem da proporção água:amido;

(b) – Tempo de pressurização;

(c) – Valores de água retida (não centrifugada) por grama de amido seco subtraindo o controlo

(d) – Valores da água liofilizada por grama de amido seco subtraindo o valor do controlo

## 2. Estudo das isotérmicas de adsorção e desorção de água

Com a realização deste estudo pretende-se saber até que ponto as modificações causadas pela pressurização no amido poderão afectar a sua interacção posterior com a água.

Este estudo envolveu a determinação das isotérmicas de adsorção e desorção de água dos amidos pressurizados e do respectivo controlo. Efectuou-se também a modelização das isotérmicas determinadas.

### 2.1 Pressurização a 300 MPa

As variações de massa verificadas foram a base do cálculo dos valores de teor de água por grama de amido seco. Estes valores foram usados na construção das isotérmicas de adsorção e desorção. Os valores de teor de água calculados para o controlo e para o amido pressurizado estão representados na tabela 11 e nas tabela 12, 13, 14 e 15 respectivamente.

**Tabela 11:** Registo dos valores calculados para os teores de água usados na construção das isotérmicas de adsorção e desorção de água para o controlo da pressurização a 300 MPa.

Controlo					
Adsorção			Desorção		
Aw	Teor de água <sup>(a)</sup> (g/g amido seco)	s <sup>(b)</sup>	Aw	Teor de água <sup>(a)</sup> (g/g amido seco)	s <sup>(b)</sup>
0	0,0000	0,0000	0	0,0000	0,0000
0,12	0,0306	0,0006	0,12	0,0590	0,0006
0,23	0,0382	0,0017	0,23	0,0829	0,0008
0,33	0,0499	0,0012	0,33	0,0967	0,0012
0,44	0,0588	0,0003	0,44	0,1144	0,0014
0,57	0,0800	0,0003	0,57	0,1267	0,0013
0,75	0,0990	0,0033	0,75	0,1381	0,0016
0,86	0,1204	0,0008	0,86	0,1449	0,0044
0,91	0,1383	0,0018	0,91	0,1508	0,0022
0,98	0,1589	0,0012	0,98	0,1636	0,0003

(a) – Teor de água, valor médio das réplicas;

(b) – Desvio padrão.

**Tabela 12:** Registo dos valores calculados para os teores de água usados na construção das isotérmicas de adsorção e desorção de água para a amostra da pressurização a 300 MPa 5 minutos.

Amido pressurizado a 300 MPa 5 minutos					
Adsorção			Desorção		
Aw	Teor de água <sup>(a)</sup> (g/g amido seco)	s <sup>(b)</sup>	Aw	Teor de água <sup>(a)</sup> (g/g amido seco)	s <sup>(b)</sup>
0	0,0000	0,0000	0	0,0000	0,0000
0,12	0,0313	0,0002	0,12	0,0597	0,0009
0,23	0,0360	0,0058	0,23	0,0850	0,0006
0,33	0,0526	0,0005	0,33	0,0914	0,0032
0,44	0,0601	0,0014	0,44	0,1178	0,0025
0,57	0,0817	0,0004	0,57	0,1389	0,0064
0,75	0,1022	0,0044	0,75	0,1614	0,0054
0,86	0,1278	0,0064	0,86	0,1754	0,0049
0,91	0,1491	0,0054	0,91	0,1878	0,0013
0,98	0,1850	0,0058	0,98	0,1982	0,0014

(a) – Teor de água, valor médio das réplicas;

(b) – Desvio padrão.

**Tabela 13:** Registo dos valores calculados para os teores de água usados na construção das isotérmicas de adsorção e desorção de água para a amostra da pressurização a 300 MPa 15 minutos

Amido pressurizado a 300 MPa 15 minutos					
Adsorção			Desorção		
Aw	Teor de água <sup>(a)</sup> (g/g amido seco)	s <sup>(b)</sup>	Aw	Teor de água <sup>(a)</sup> (g/g amido seco)	s <sup>(b)</sup>
0	0,0000	0,0000	0	0,0000	0,0000
0,12	0,0326	0,0006	0,12	0,0627	0,0001
0,23	0,0422	0,0014	0,23	0,0844	0,0026
0,33	0,0594	0,0007	0,33	0,0996	0,0004
0,44	0,0726	0,0009	0,44	0,1226	0,0021
0,57	0,0886	0,0019	0,57	0,1473	0,0031
0,75	0,1077	0,0025	0,75	0,1783	0,0019
0,86	0,1326	0,0017	0,86	0,1873	0,0033
0,91	0,1516	0,0032	0,91	0,1977	0,0025
0,98	0,1980	0,0016	0,98	0,2023	0,0003

(a) – Teor de água, valor médio das réplicas;

(b) – Desvio padrão.

**Tabela 14:** Registo dos valores calculados para os teores de água usados na construção das isotérmicas de adsorção e desorção de água para a amostra da pressurização a 300 MPa 30 minutos

Amido pressurizado a 300 MPa 30 minutos					
Adsorção			Desorção		
Aw	Teor de água <sup>(a)</sup> (g/g amido seco)	s <sup>(b)</sup>	Aw	Teor de água <sup>(a)</sup> (g/g amido seco)	s <sup>(b)</sup>
0	0,0000	0,0000	0	0,0000	0,0000
0,12	0,0439	0,0032	0,12	0,0688	0,0004
0,23	0,0575	0,0023	0,23	0,0911	0,0006
0,33	0,0772	0,0001	0,33	0,1109	0,0007
0,44	0,0876	0,0004	0,44	0,1291	0,0013
0,57	0,1041	0,0030	0,57	0,1491	0,0011
0,75	0,1377	0,0025	0,75	0,1770	0,0024
0,86	0,1651	0,0034	0,86	0,1959	0,0003
0,91	0,1807	0,0003	0,91	0,2049	0,0034
0,98	0,2193	0,0008	0,98	0,2199	0,0011

(a) – Teor de água, valor médio das réplicas;

(b) – Desvio padrão.



**Tabela 15:** Registo dos valores calculados para os teores de água usados na construção das isotérmicas de adsorção e desorção de água para a amostra da pressurização a 300 MPa 60 minutos

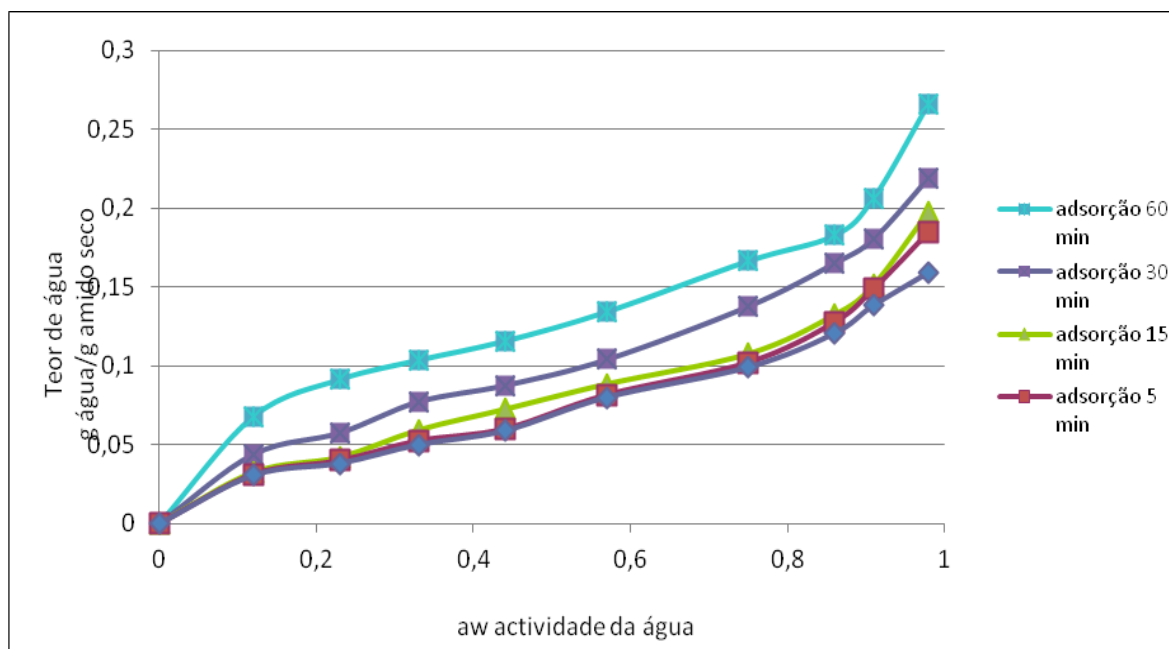
<b>Amido pressurizado a 300 MPa 60 minutos</b>					
<b>Adsorção</b>			<b>Desorção</b>		
<b>Aw</b>	<b>Teor de água<sup>(a)</sup></b> (g/g amido seco)	<b>s<sup>(b)</sup></b>	<b>Aw</b>	<b>Teor de água<sup>(a)</sup></b> (g/g amido seco)	<b>s<sup>(b)</sup></b>
0	0,0000	0,0000	0	0,0000	0,0000
0,12	0,0680	0,0001	0,12	0,0731	0,0023
0,23	0,0914	0,0004	0,23	0,1007	0,0004
0,33	0,1036	0,0003	0,33	0,1284	0,0003
0,44	0,1157	0,0050	0,44	0,1507	0,0012
0,57	0,1343	0,0011	0,57	0,1859	0,0000
0,75	0,1665	0,0028	0,75	0,2087	0,0011
0,86	0,1827	0,0018	0,86	0,2241	0,0017
0,91	0,2065	0,0023	0,91	0,2426	0,0005
0,98	0,2662	0,0017	0,98	0,2618	0,0003

(a) – Teor de água, valor médio das réplicas;

(b) – Desvio padrão.

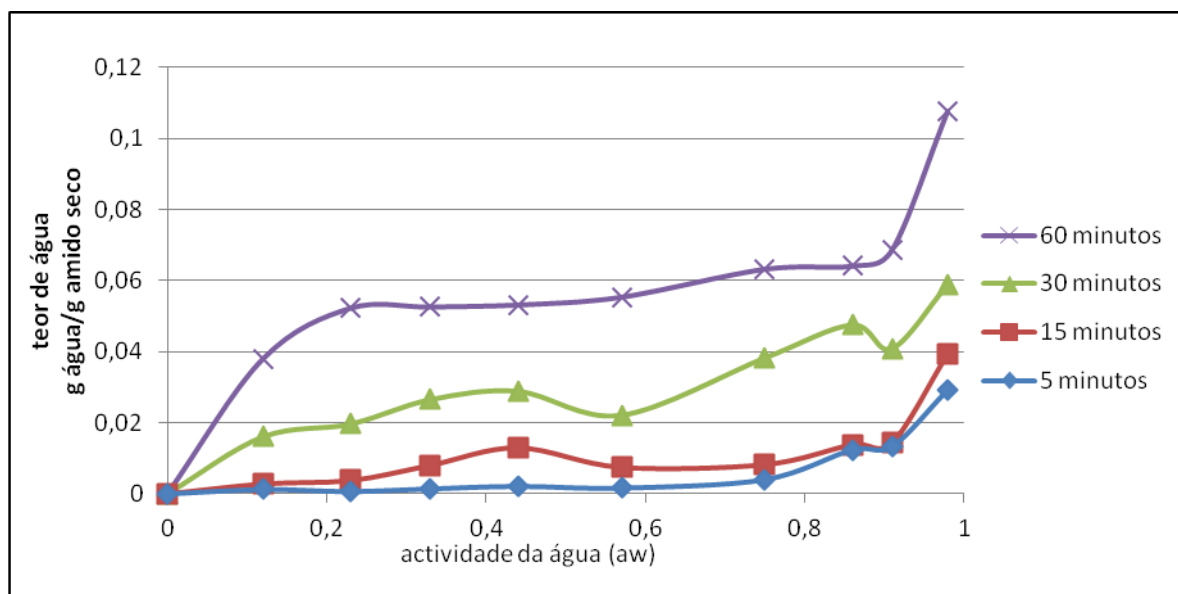
No caso da adsorção, os valores para os teores de água foram calculados a partir das variações de massa, tendo sido divididos pelo conteúdo de cada amostra em termos de amido seco obtendo-se o teor de água por grama de amido seco. No caso da desorção, como se partia de um estado de alto teor de água, os valores de teor de água por grama de amido seco, foram calculados a partir das variações de massa, tendo estas sido divididas pelo valor do conteúdo de cada amostra em termos de amido seco. Este valor calculado representava a perda no teor de água por grama de amido em relação ao valor inicial, por isso estes valores foram subtraídos ao valor inicial de teor de água, de maneira a obter-se para cada actividade de água o valor real do teor de água por grama de amido seco.

A determinação das isotérmicas de adsorção e desorção foi realizada representando graficamente os valores de teor de água em função da actividade de água (gráfico 3 e gráfico 5).

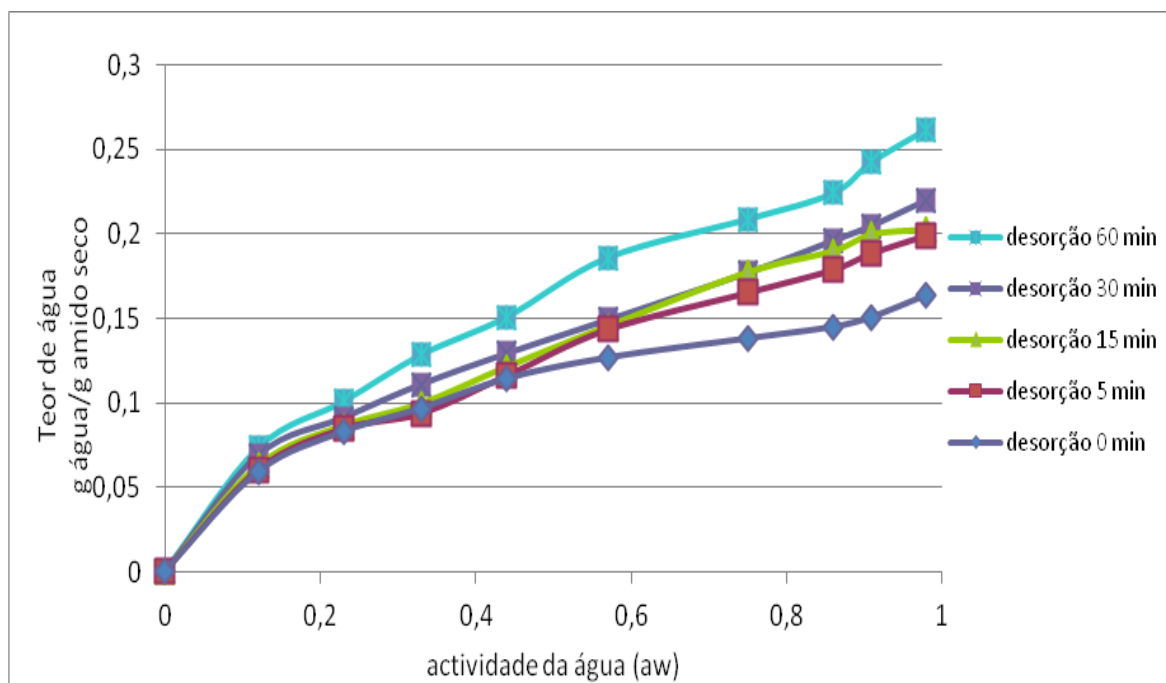


**Gráfico 3:** Representação gráfica dos resultados obtidos para as isotérmicas de adsorção de amido não pressurizado e amido pressurizado

Representou-se, graficamente, gráfico 4, a diferença entre as isotérmicas do amido pressurizado e a isotérmica do controlo para melhor nos apercebermos da diferença causada pela submissão à pressão.

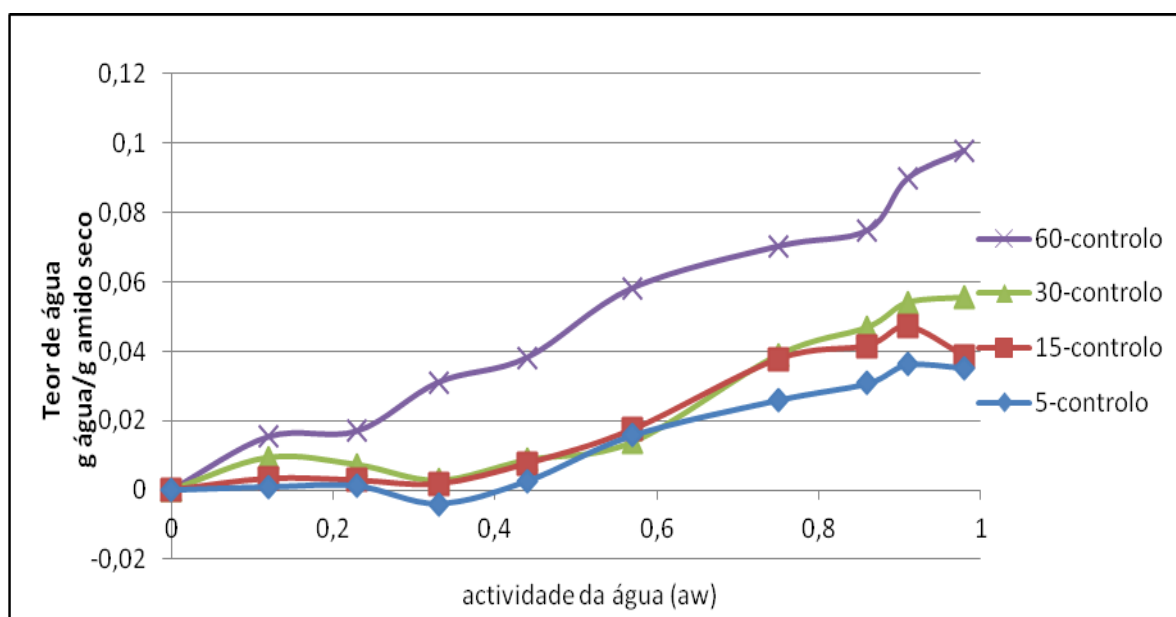


**Gráfico 4:** Representação gráfica dos resultados obtidos para a diferença entre as isotérmicas de adsorção de amido pressurizado nos diversos tempos de pressurização e da isotérmica do controlo.



**Gráfico 5:** Representação gráfica dos resultados obtidos para as isotérmicas de desorção de amido nos diversos tempos de pressurização

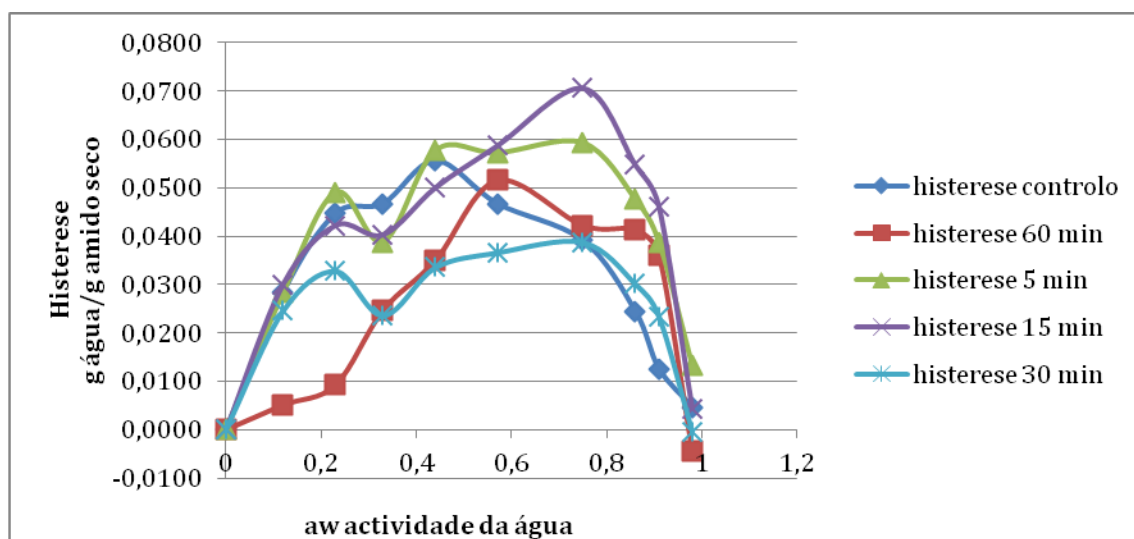
Igualmente representou-se gráficamente, gráfico 6, a diferença entre as isotérmicas de desorção e a isotérmica do controlo para melhor nos apercebermos da diferença causada pela submissão à pressão.



**Gráfico 6:** Representação gráfica dos resultados obtidos para a diferença entre as isotérmicas de desorção de amido nos diversos tempos de pressurização e a isotérmica de desorção do controlo.

Tal como seria de esperar, as curvas das isotérmicas de adsorção e desorção do amido pressurizado e do controlo seguem um percurso de aumento do teor de água com o aumento da actividade de água, sendo que os percursos individuais das curvas das isotérmicas de adsorção e de desorção são diferentes devido à ocorrência do fenómeno de histerese. As curvas representativas das isotérmicas de adsorção e desorção tanto para a amostra como para o controlo apresentam-se na forma de curvas sigmoidais, reflectindo as características de isotérmicas do tipo II de acordo com a classificação IUPAC.

Para verificar o efeito do processamento no fenómeno de histerese, a histerese do amido pressurizado e do controlo foram representadas graficamente no gráfico 7.



**Gráfico 7:** Representação gráfica da histerese para o amido pressurizado nos diferentes tempos e para o controlo da pressurização a 300 MPa.

A representação gráfica da histerese mostra a existência de diferenças entre a histerese do amido pressurizado e do controlo. Ainda que as diferenças observadas sejam ligeiras, é possível afirmar que o processamento a 300 MPa das amostras de amido em excesso de água parece afectar ligeiramente a histerese do amido pressurizado em relação à histerese verificada para o controlo.

Quanto à modelização os resultados obtidos para a modelização de BET e de GAB das isotérmicas de adsorção e desorção das amostras e controlo da

pressurização a 300 MPa são apresentados na tabela 16. Os resultados são relativos aos valores calculados para os parâmetros  $C_b$ ,  $C_g$ ,  $M_m$  e  $K$  e ainda dos valores de correlação obtidos nas regressões.

**Tabela 16:** Registo dos valores calculados para os parâmetros que compõem os modelos BET e GAB para o amido pressurizado e para o controlo da pressurização a 300 MPa

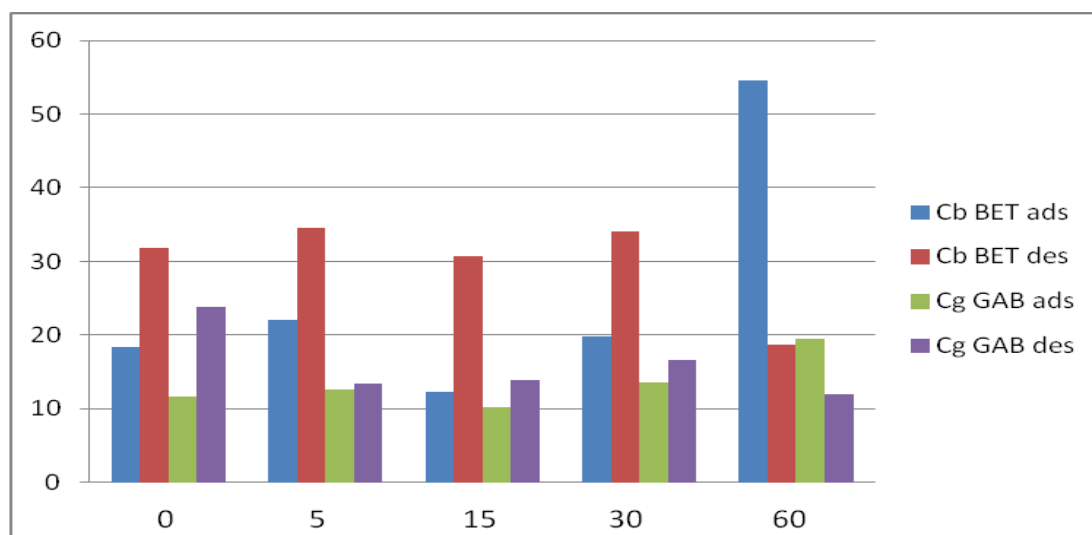
		BET			GAB			
		$C_b^{(a)}$	$M_m^{(b)}$ (g/g amido seco)	$R^2$	$K^{(c)}$	$C_g^{(d)}$	$M_m^{(b)}$ (g/g amido seco)	$R^2$
<b>Controlo</b>	Adsorção	18,45	0,035	0,981	0,721	11,60	0,050	0,947
	Desorção	31,77	0,068	0,995	0,237	23,84	0,137	0,999
<b>Amido pressurizado 5</b>	Adsorção	21,99	0,037	0,994	0,762	12,58	0,048	0,983
	Desorção	34,54	0,068	0,996	0,533	13,34	0,112	0,993
<b>Amido pressurizado 15</b>	Adsorção	12,36	0,045	0,991	0,683	10,26	0,060	0,952
	Desorção	30,66	0,071	0,998	0,501	13,83	0,119	0,987
<b>Amido pressurizado 30</b>	Adsorção	19,87	0,053	0,990	0,682	13,55	0,072	0,984
	Desorção	34,02	0,076	0,997	0,486	16,56	0,124	0,998
<b>Amido pressurizado 60</b>	Adsorção	54,51	0,069	0,987	0,570	19,52	0,101	0,990
	Desorção	18,64	0,092	0,995	0,393	12,03	0,176	0,986

(a), (d) – Constantes relacionadas com o calor de sorção da monocamada;

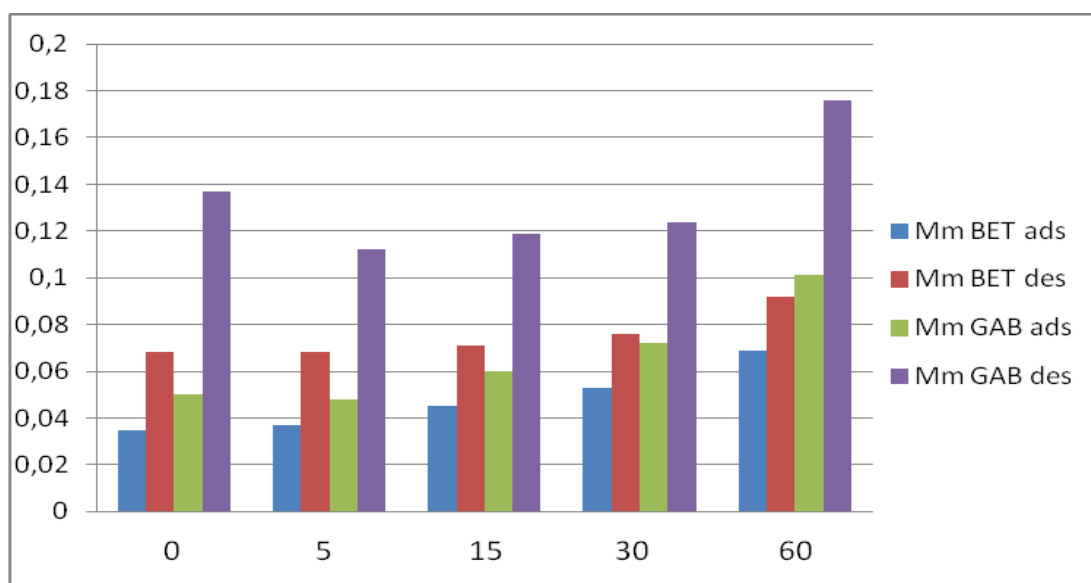
(b) – Valor da monocamada;

(c) - Constante relacionada com as propriedades das moléculas da multicamada;

Apresenta-se de seguida a representação gráfica para os valores de  $C_b$ ,  $C_g$ ,  $M_m$  de BET e GAB nos gráficos 8 e 9.



**Gráfico 8:** Representação gráfica dos valores de  $C_b$  de BET e  $C_g$  de GAB



**Gráfico 9:** Representação gráfica de Mm de BET e Mm de GAB

Da análise da tabela 16, um factor a ter em conta é o facto de os valores de correlação serem elevados o que indica que os valores calculados para os parâmetros apresentados na tabela 16 providenciam uma boa estimativa dos mesmos.

Enrione et al., (2007) descreve que os valores para a monocamada obtidos pela equação de BET são geralmente mais baixos do que os obtidos pela equação de GAB. Afirma ainda que é possível que o parâmetro extra K do modelo GAB influencie o valor para a monocamada durante o ajuste do modelo. A literatura sugere ainda que os valores dados pelo modelo GAB são mais próximos do que os valores teóricos esperados para a monocamada.

Os resultados obtidos estão de acordo com estes factos descritos na literatura, uma vez que os valores calculados para a monocamada pelo modelo BET são sempre inferiores em relação aos valores calculados pelo modelo GAB. Excepção no amido pressurizado a 60 minutos onde os valores relativos á adsorção e desorção aparecem no sentido contrário aos dos restantes tempos de pressurização, podendo indicar aqui uma potencial hipótese de inicio de gelatinização, mas mais estudos seriam necessários para se poder evoluir nesta hipótese. No entanto, podemos verificar que a relação entre os valores da monocamada, mantém-se como descrito na literatura, sendo os valores de GAB

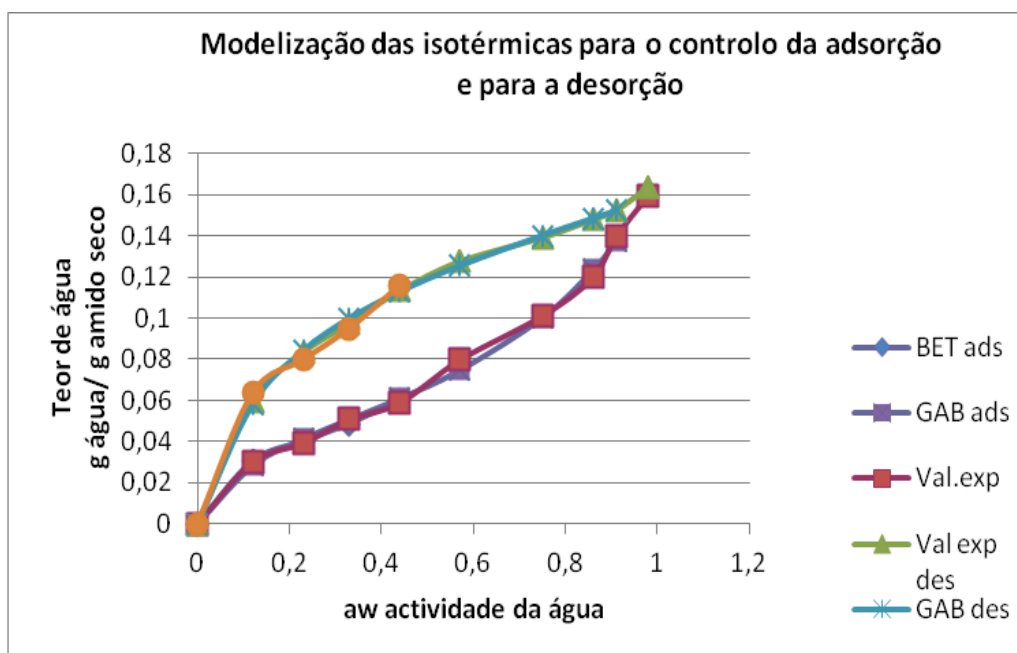
superiores aos de BET e que os valores das constantes de energia de GAB são muito mais baixos que os de BET (Timmermann et al., 2001).

Seguindo a definição de Brunauer et al., (1938) a constante  $C_b$  está relacionada com a diferença no calor de sorção entre a monocamada ( $E_1$ ) e a multicamada ( $E_L$ ) (energeticamente considerada com água normal). Uma diminuição no valor de  $C_b$  sugere uma diminuição do valor de  $E_1$ , uma vez que  $E_L$  permanece constante. Sendo assim uma diminuição no valor de  $C_b$  indica uma menor energia de interacção entre as moléculas de água e a matriz e vice-versa (Enrione et al., 2007). O mesmo raciocínio se aplica a  $C_g$ . A diferença entre os valores de  $C_b$  e de  $C_g$  é atribuída ao parâmetro extra  $K$  do modelo GAB. Segundo a literatura para o modelo GAB existe a separação das energias de sorção da monocamada e da multicamada, o que causa os menores valores de  $C_g$  em relação aos valores de  $C_b$ .

Quanto ao efeito da pressurização, os dados mostram pequenas diferenças nos valores de  $C_b$  entre o controlo e o amido pressurizado, sendo excepção no caso da pressurização a 60 minutos onde se regista a maior diferença. Sendo os valores para o amido pressurizado a 30 e 60 minutos superiores aos valores do controlo o que indica um aumento na energia de interacção entre as moléculas de água e o amido pressurizado em relação ao controlo. O mesmo se verifica para o parâmetro  $C_g$ . Quanto ao valor da monocamada calculado pelo modelo BET e pelo modelo GAB, as diferenças que se verificam são relativamente pequenas entre o amido pressurizado e o controlo da pressurização, o que indica que ainda que a energia das interacção entre a água e o amido pressurizado aumente em relação à energia da interacção entre a água e o amido não pressurizado, o conteúdo de água na monocamada não se altera. Tais factos podem dever-se a mudanças estruturais no amido pressurizado que facilitam o acesso e a ligação da água aos grupos hidroxilo (grupos responsáveis pela ligação da água ao amido), no entanto a pressurização não aumenta o número destes grupos, o que faz manter inalterado o número de interacções entre a água e o amido e logo o valor da monocamada não se altera. É no entanto de salientar que as diferenças observadas nos valores dos parâmetros  $C_b$  e  $C_g$  entre o amido pressurizado e o

controlo da pressurização embora ligeiras indica que existem modificações da estrutura do amido causadas pela pressurização.

No gráfico 10 encontram-se representados os valores experimentais e as linhas previstas pelos modelos BET e GAB para o controlo. O modelo BET foi usado na modelização na gama de actividade de água entre 0,00 e 0,44 enquanto que o modelo GAB foi usado na modelização da gama de actividade de água entre 0,00 e 0,91, segundo os dados fornecidos pela literatura.

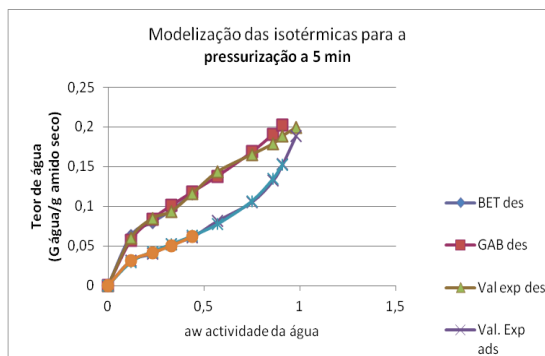


**Gráfico 10:** Representação gráfica dos valores experimentais e das linhas previstas pelos modelos BET e GAB para as isotérmicas de adsorção e desorção do controlo da pressurização a 300 MPa

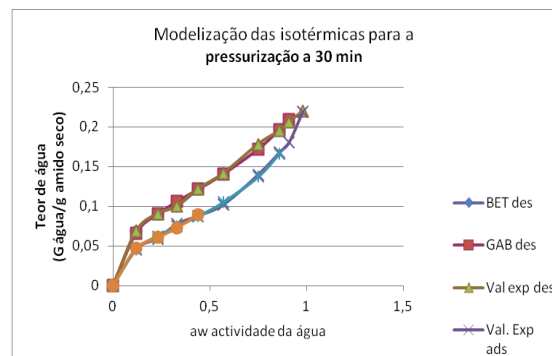
Do gráfico 10 verifica-se que tanto para a isotérmica de adsorção como para a isotérmica de desorção os modelos nas gamas de actividade de água analisadas fazem uma boa previsão dos valores para os teores de água por grama de amido seco, uma vez que as curvas resultante dos pontos previstos estão praticamente sobrepostas com os pontos experimentais.

Nas representações gráficas seguintes (gráfico 11 a gráfico 14) encontram-se representados os valores experimentais e as linhas previstas pelos modelos BET e GAB para as amostras às diferentes pressurizações nas isotérmicas de adsorção e desorção.

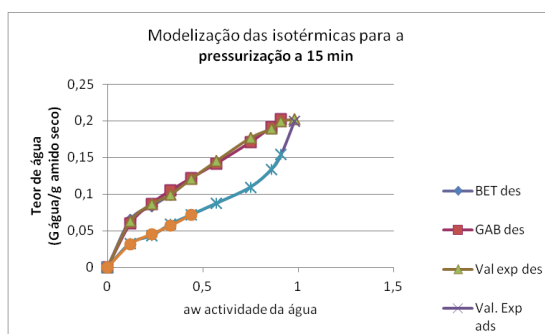




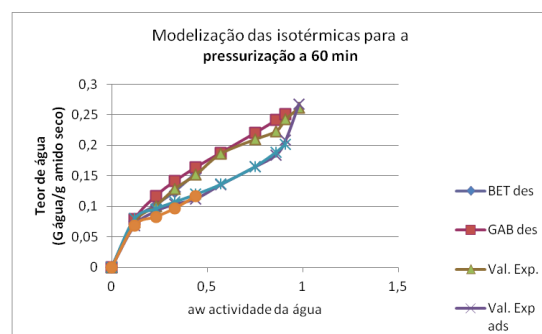
**Gráfico 11:** Representação gráfica dos valores experimentais e das linhas previstas pelos modelos BET e GAB para as isotérmicas de adsorção e desorção do amido pressurizado a 300 MPa durante 5 minutos.



**Gráfico 13:** Representação gráfica dos valores experimentais e das linhas previstas pelos modelos BET e GAB para as isotérmicas de adsorção e desorção do amido pressurizado a 300 MPa durante 30 minutos.



**Gráfico 12:** Representação gráfica dos valores experimentais e das linhas previstas pelos modelos BET e GAB para as isotérmicas de adsorção e desorção do amido pressurizado a 300 MPa durante 15 minutos.



**Gráfico 14:** Representação gráfica dos valores experimentais e das linhas previstas pelos modelos BET e GAB para as isotérmicas de adsorção e desorção do amido pressurizado a 300 MPa durante 60 minutos.

Da mesma forma que se tinha verificado para o controlo, também para o amido pressurizado, os modelos fazem uma boa previsão dos valores de teor de água tanto para a isotérmica de adsorção como para a isotérmica de desorção.

Um método para avaliar a proximidade entre os valores previstos e os valores experimentais é o cálculo da percentagem do módulo do desvio médio relativo, sendo a fórmula de cálculo a representada na equação 19.

$$E(\%) = \frac{100\%}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|M - M_p|}{M} \quad \text{Eq. 19}$$

Sendo  $n$  o numero de observações,  $M$  o valor experimental e  $M_p$  o valor previsto pelo modelo.

Esse parâmetro é usado na literatura para comprovar se o ajuste dos modelos é satisfatório e no geral um valor abaixo de 10% é indicativo de um bom ajuste para aplicações práticas (McMinn and Magee, 1997).

Os valores de erro calculados segunda a equação 19 estão representados na tabela 17.

**Tabela 17:** Registo dos valores do erro associado à modelização para a amostra e controlo da pressurização a 300 MPa.

		BET	GAB
		$E^{(a)} (%)$	$E^{(a)} (%)$
<b>Controlo</b>	Adsorção	3,07	3,31
	Desorção	3,75	1,07
<b>5 min</b>	Adsorção	2,23	2,82
	Desorção	3,07	4,48
<b>15 min</b>	Adsorção	3,05	3,36
	Desorção	2,03	2,53
<b>30 min</b>	Adsorção	3,26	2,77
	Desorção	2,35	1,23
<b>60 min</b>	Adsorção	4,36	2,62
	Desorção	2,51	2,78

(a) – Valor da percentagem do módulo do desvio médio relativo.

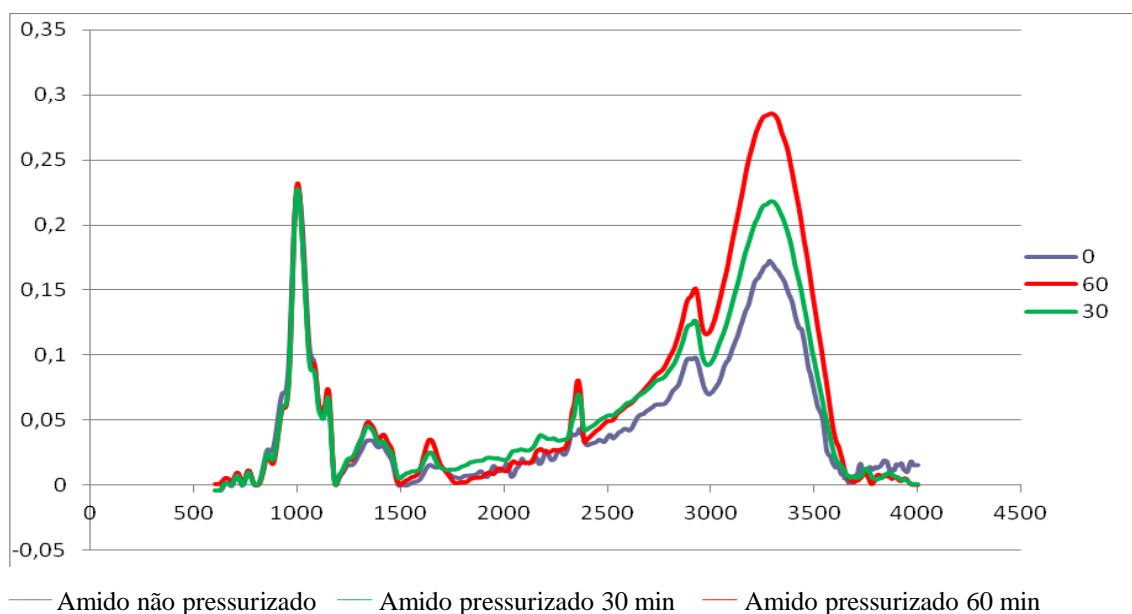
Os valores calculados para o parâmetro  $E$ , tanto para os valores estimados para a isotérmica de adsorção como para a isotérmica de desorção do amido pressurizado e do controlo da pressurização a 300 MPa, mostram que o ajuste é muito satisfatório para ambos os modelos dentro das gamas de actividade de água propostas pela literatura. O valor mais alto é um valor bastante inferior ao patamar de 10%, (cerca de 50% inferior), para o qual o ajuste é aceitável, sendo assim podemos concluir que tanto o modelo BET como o modelo GAB, podem ser usados para prever os valores de teor de água por grama de amido seco com um erro associado muito baixo. Estes valores de erro vem assim confirmar a credibilidade dos valores dos parâmetros calculados ( $C_b$ ,  $C_g$ ,  $M_m$  e  $K$ ) que se situam dentro do descrito na literatura para o amido.

## FTIR AMIDO

Os espectros FTIR foram obtidos para amido liofilizado e foram obtidos em modo de absorvância com 128 scans entre 4.000 a 600  $\text{cm}^{-1}$  de comprimento de onda, com um intervalo de 2  $\text{cm}^{-1}$  e uma resolução de 8  $\text{cm}^{-1}$  num equipamento Perkin Elmer FT-IR System.

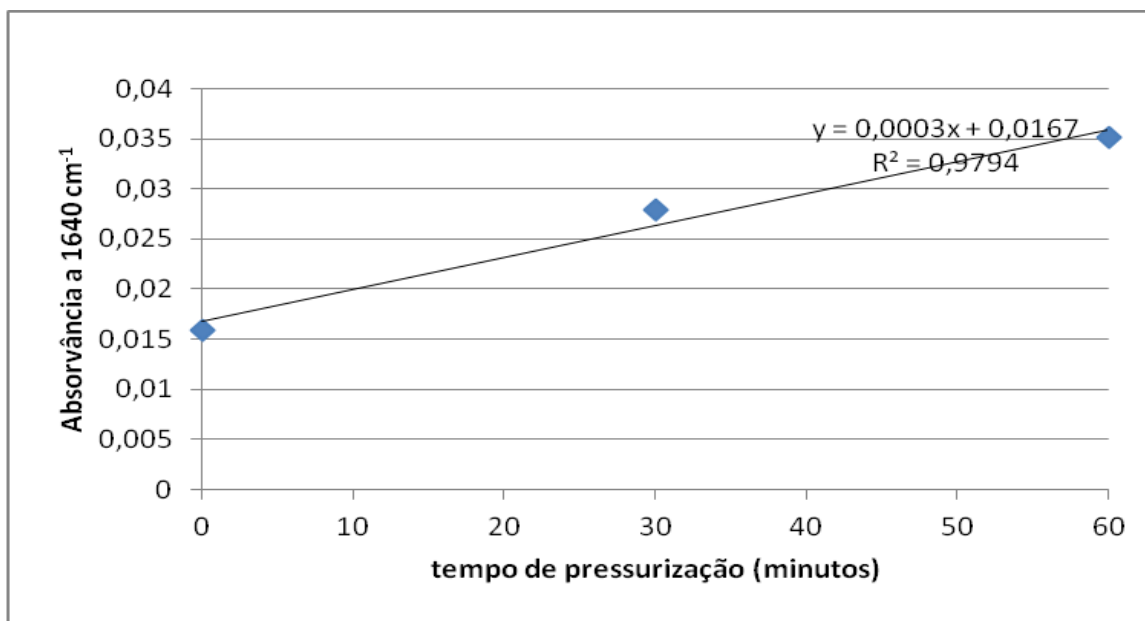
Os grânulos de amido podem ser considerados como uma combinação de dois componentes, amilose e amilopectina. Ambos consistem em unidades de glucopiranoose com ligações glicosídicas  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4), a amilose é essencialmente linear, enquanto a amilopectina é um polímero altamente ramificado devido a 5-6% de ligações  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6) (Buléon et al., 1998). Os grânulos completos de amido são constituídos por zonas cristalinas e zonas não cristalinas (zonas amorfas), em camadas alternadas (BeMiller and Whistler, 1997). As ramifica  es da amilopectina constituem as zonas amorfas, enquanto as zonas lineares formam as zonas cristalinas.

Apresenta-se a seguir no gráfico 19 os espectros obtidos em FTIR para amido não pressurizado, amido pressurizado a 30 minutos e amido pressurizado a 60 minutos, onde se pode observar que a submissão    pressão, provocou altera  es no amido.



**Gráfico 15:** Espectro FTIR sobre amido liofilizado, não pressurizado, amido pressurizado durante 30 minutos e 60 minutos a 300 Mpa.

Observando os espectros FTIR apresentados no gráfico 15 podemos reparar que apresentam regiões de absorção perfeitamente definidas. A região de absorção a  $3300\text{ cm}^{-1}$  é atribuível aos grupos OH dos açúcares e de água (estruturalmente ligada). A zona dos  $2950\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$  está associada aos estiramentos das ligações C-H em grupos CH e  $\text{CH}_2$ . O pico a  $2360\text{ cm}^{-1}$  é atribuível à contaminação do meio ambiente por  $\text{CO}_2$ . O pico aos  $1640\text{ cm}^{-1}$  é atribuível à água estruturalmente ligada. Temos depois uma grande banda, com uma região de absorção entre os comprimentos de onda  $800\text{ cm}^{-1}$  a  $1300\text{ cm}^{-1}$  que se enquadra dentro da região do fingerprint do amido com uma forte absorção sensivelmente nos  $1000\text{ cm}^{-1}$  relacionada com zonas cristalinas hidratadas do amido (Capron et al., 2007), que é atribuída aos alongamentos (C-O, C-C, C-H e alguma contribuição de C-OH). Fazendo a representação das absorvâncias obtidas do pico em  $1640\text{ cm}^{-1}$  de comprimento de onda, atribuída água estruturalmente ligada, temos um aumento da água com o aumento do tempo de pressurização da amostra (no gráfico 16).



**Gráfico 16:** Representação das absorvâncias a  $1640\text{ cm}^{-1}$

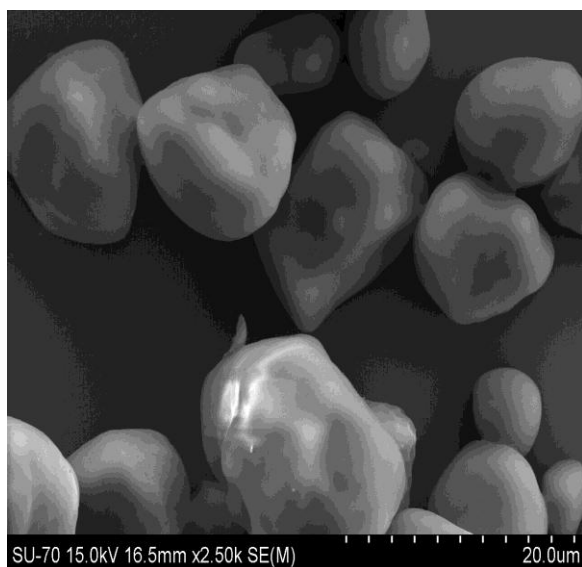
Como aparece referido na literatura, relativamente ao mecanismo que conduz à gelatinização do amido pressurizado, no primeiro passo a região amorfa do amido é hidratada, resultando num aumento dos grânulos e no segundo passo a região cristalina torna-se mais acessível à água

Esta situação, vem talvez justificar porque o aspecto das suspensões de amido após submetidas a pressão apresentam uma textura muito diferentes, fazendo lembrar um gel, enquanto que a suspensão não submetida a pressão permanece com uma textura muito próxima da sua forma original, pó de amido em suspensão, como se observou durante o vazamento para os copos de centrifugação, no procedimento para o estudo da incorporação da água e das isotérmicas do amido.

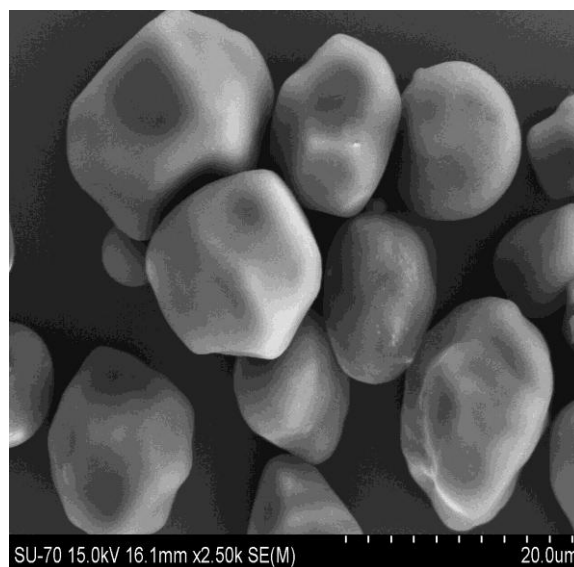
Pudemos constatar que o aumento de tempo na pressurização, incrementa os picos a 1645 e a 3300  $\text{cm}^{-1}$  o que corresponde ao aumento de hidratação já verificado anteriormente.

## MICROSCOPIA

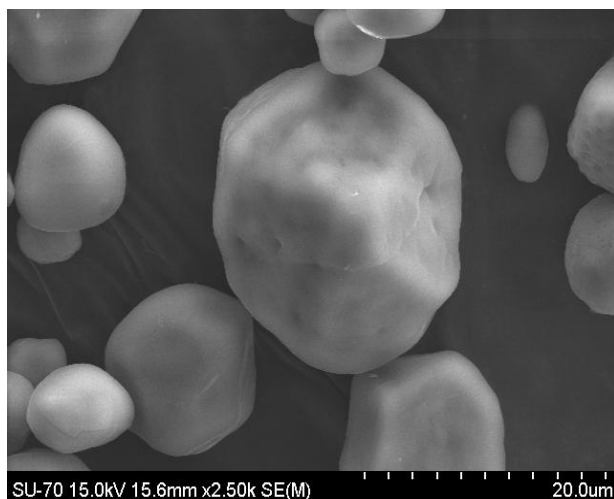
A microscopia electrónica foi realizada para amido liofilizado, utilizando um microscópio electrónico Hitachi SU-70 a 15 KV, executando microscopia electrónica de varrimento,



**Figura 19:** Fotografia de amido liofilizado sem pressurização obtido em microscópio electrónico Hitachi SU-70 a 15 KV



**Figura 20:** Fotografia de amido liofilizado pressurizado 30 min a 300 MPa obtido em microscópio electrónico Hitachi SU-70 a 15 KV



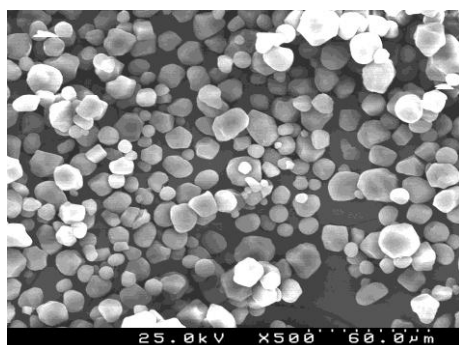
**Figura 21:** Fotografia de amido liofilizado pressurizado 60 min a 300 Mpa obtido em microscópio electrónico Hitachi SU-70 a 15 KV

Com a realização deste trabalho de microscopia, pretendeu-se tentar visualizar a transformação a que o amido esteve sujeito durante o processo realizado de submissão à pressão e tentar relacionar o seu aspecto com o comportamento obtido.

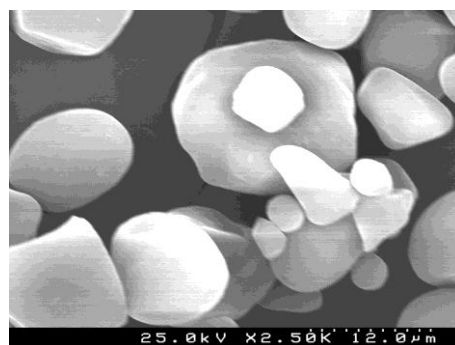
Pudemos observar que as diferenças entre o amido não pressurizado e o amido pressurizado a 30 minutos e 60 minutos não são tão perceptíveis quanto esperaríamos, mas realmente com 60 minutos de pressurização relativamente ao amido não pressurizado existe a percepção de haver uma maior transformação nos grânulos de amido, o que leva a pensar que realmente os resultados obtidos estarão no sentido certo. Mais estudos seriam então necessários.

Para se complementar as observações feitas, aproveitando a oportunidade de poder colocar amostras em conjunto com produtos em produção, realizaram-se alguns ensaios nas pressões disponíveis. Assim, realizaram-se ensaios a 350 MPa durante 20 minutos, a 425 MPa durante 5 e 10 minutos, a 500 MPa durante 10 minutos. Realizaram-se também ensaios a 600 MPa em laboratório para podermos apreciar realmente as diferenças referidas na literatura, de formação de gel nesta pressão e podermos apreciar assim as diferenças entre as diversas pressões. Podemos observar na figura 18 as imagens obtidas no microscópio electrónico do amido (liofilizado) nas diversas pressões realizadas.

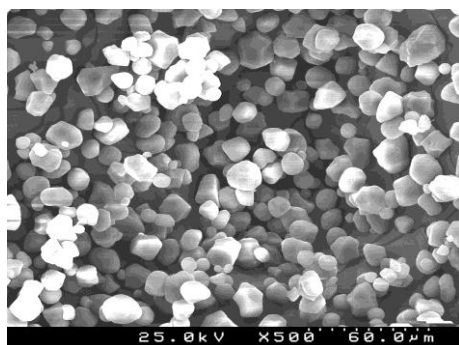
**Figura 22** : fotografias SEM do amido pressurizado a 350 MPa, 425 MPa, 500 MPa e 600 MPa



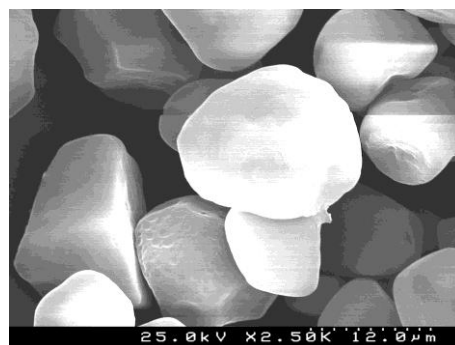
Amido pressurizado a 350MPa 20 min



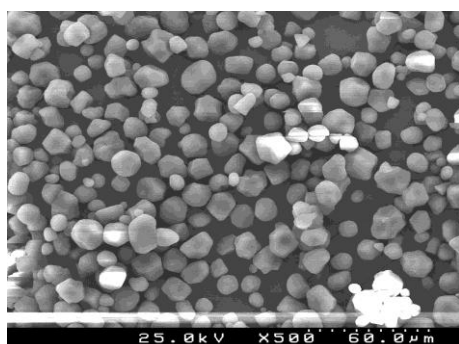
Amido pressurizado a 350MPa 20 min



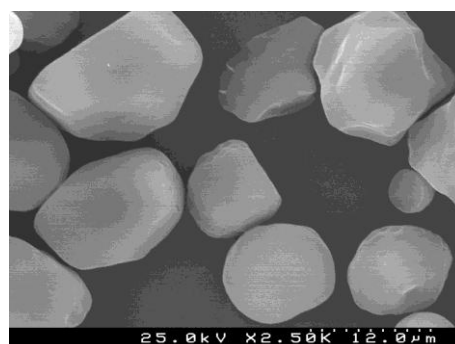
Amido pressurizado a 425 MPa 5 min



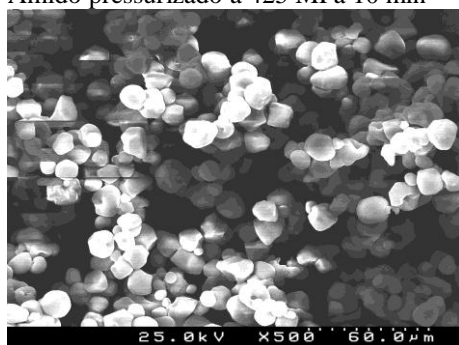
Amido pressurizado a 425 MPa 5 min



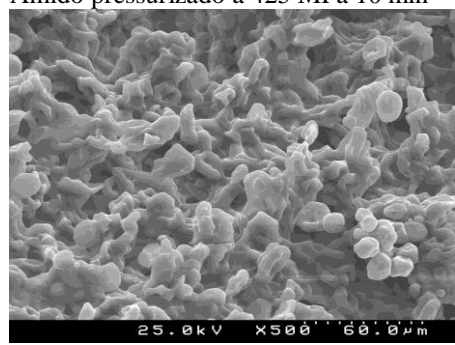
Amido pressurizado a 425 MPa 10 min



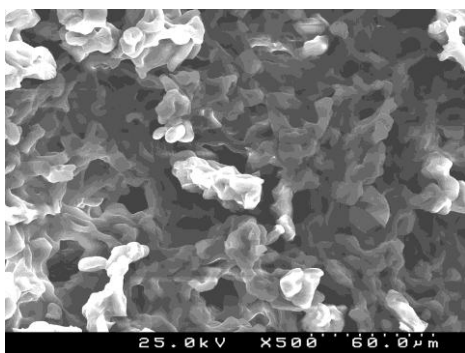
Amido pressurizado a 425 MPa 10 min



Amido pressurizado a 500 MPa 10 min



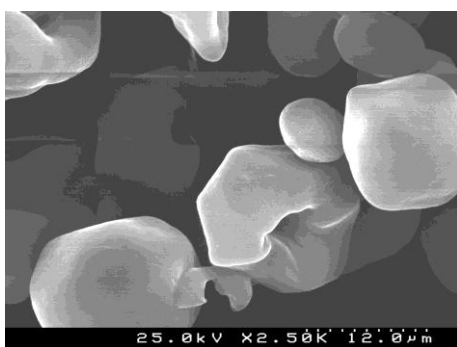
Amido pressurizado a 600 MPa 5 min



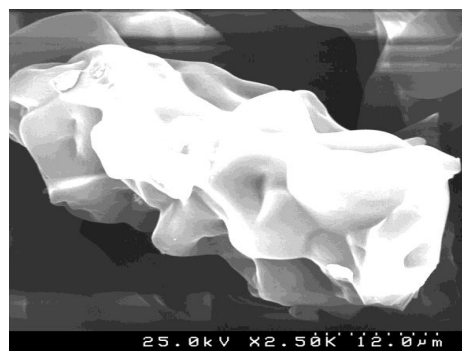
Amido pressurizado a 600 MPa 30 min



Amido pressurizado a 600 MPa 5 min



Amido pressurizado a 500 MPa 10 min



Amido pressurizado a 600 MPa 30 min



## IV - Conclusão

Em relação ao estudo da incorporação de água em amido, os resultados da pressurização indicam que não causou alterações significativas na quantidade de água incorporada pelo amido de milho pressurizado em relação ao controlo para todos os tempos de pressurização estudados. Contudo da análise de resultados da centrifugação conclui-se que a pressurização a 300 Mpa e o aumento de tempo de pressurização influencia a quantidade de água retida e que não é centrifugável. O máximo de água retida verificou-se para a amostra de 60 minutos de pressurização, sendo o valor de 4,9% (g água por 100g de amido seco). Os resultados da liofilização das amostras indicam que a água retida pelo amido e que não é centrifugável é no entanto liofilizável, uma vez que se verificaram valores de água liofilizada muito próximos dos valores de água retida mesmo após a centrifugação das amostras, ou seja, a água retida foi removida quase, ou mesmo, na sua totalidade pela liofilização. Nas pressurizações de 5, 15 e 30 minutos a água liofilizada é ligeiramente superior ao valor de água retida, enquanto na pressurização a 60 minutos a água liofilizada é ligeiramente inferior à água retida o que pode indiciar a presença de água retida mais fortemente no amido.

Quanto ao estudo do efeito de pressurizações nas isotérmicas de adsorção e desorção de água em amido, os resultados do estudo do fenómeno de histerese mostram que as diferenças entre o amido pressurizado e o controlo não são elevadas. Pela análise dos valores dos parâmetros calculados pela modelização dos dados experimentais conclui-se que ainda que a energia da interacção entre a água e o amido pressurizado aumente com a pressurização (aumento dos valores de  $C_b$  e  $C_g$ ), o conteúdo de água na monocamada apresenta valores de  $M_m$  que apresentam uma tendência global para aumentarem com o tempo de pressurização. Tal facto deve-se às mudanças estruturais no amido causadas pela pressurização que facilitam o acesso e a ligação da água aos grupos hidroxilo (grupos responsáveis pela ligação da água ao amido).

No entanto o sentido em que se processou a evolução dos resultados leva a crer que em estudos futuros envolvendo outras pressões e conjugando com outras condições, se poderão esperar efeitos mais aprofundados nas

propriedades do amido, uma vez que pudemos constatar que o aumento da pressão origina modificações na estrutura do amido, podendo por isso causar modificações nas suas propriedades. As observações realizadas nos espectros FTIR e na microscopia electrónica realizadas em complemento do estudo da incorporação da água no amido e nos efeitos nas isotérmicas de adsorção e desorção, levam-nos a poder antever que será possível em realizações futuras conseguir estudar uma optimização dos efeitos da incorporação da água nas isotérmicas de adsorção e desorção do amido pressurizado, utilizando o binómio pressão-tempo de pressurização.

**Referências bibliográficas**

- ◇ Ahmed, J., Ramaswamy, H. S., Ayad, A., Alli, I., & Alvarez, P.; 2007. *Effect of high- pressure treatment on rheological, thermal and structural changes in Basmati rice flour slurry*. Journal of Cereal Science, 46, 148–156.
- ◇ Barbosa-Cánovas, G. V.; Vega-Mercado, H.; 1996. *Dehydration of Foods*, New York, International Thompson Publishing. pp. 29-100.
- ◇ Barreiro, J. A.; Fernández, S.; Sandomal, A. J.; 2003. *Water sorption characteristics of six row barley malt (Hordeum vulgare)*. LWT - Food Science and Technology, 36, 37-42.
- ◇ Bauer, B. A.; Knorr, D.; 2005. *The impact of pressure, temperature and treatment time on starches: Pressure-induced starch gelatinization as pressure time temperature indicator for high hydrostatic pressure processing*. Journal of Food Engineering, 68, 329–334.
- ◇ Beery, K. E.; Ladisch, M. R.; 2001. *Chemistry and properties of starch based desiccants*. Enzyme and microbial technology, 28, 573-581.
- ◇ Bellagha S.; Sahli, A.; Farhat, A.; 2007. *GAB Generalized Equation for Sorption Phenomena*. Food Bioprocess Technology, 1(3), 270-275.
- ◇ BeMiller, J. N.; Whistler, R. L.; 1997. *Carbohydrate Chemistry for Food Scientist*, 1ª Edição. American Association of Cereal Chemists, Inc. pp. 117-151.
- ◇ Blahovec J.; 2004. *Sorption isotherms in materials of biological origin mathematical and physical approach*. Journal of Food Engineering, 65, 489–495.
- ◇ Blahovec J.; Yanniotis, S.; 2007. *GAB Generalized Equation for Sorption Phenomena*. Food Bioprocess Technology, 1, 82-90.
- ◇ Blaszczyk, W.; Valverde, S.; Fornal, J.; 2005. *Effect of high pressure on the structure of potato starch*. Carbohydrate Polymers, 59, 377-383.
- ◇ Brunauer, S.; Emmet, P. H.; Teller, E.; 1938. *Adsorption of gases in multimolecular layers*. Journal of the American Chemical Society, 60, 309–319.
- ◇ Buckow, R.; Jankowiak, L.; Knorr, D.; Versteeg, C.; 2009. *Pressure–temperature phase diagrams of maize starches with different amylose contents*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57, 11510–11516.

- ◇ Buléon, A.; Colonna P.; Planchot V.; Ball S.; 1998. *Starch granules: structure and biosynthesis*. International Journal Of Biological Macromolecules, 23, pp. 85–112.
- ◇ Buléon A.; Gérard C.; Riekel C.; Vuong R.; Chanzy H.; 1998. *Details of the crystalline ultrastructure of C-starch granules revealed by synchrotron microfocus mapping*. Macromolecules, 31, 6605–6610.
- ◇ Campos, F. P.; Dosualdo, G. L.; Cristianini, M.; 2003. *Utilização de tecnologia de alta pressão no processamento de alimentos*. Brazilian Journal of Food Technology, v. 6, n. 2, p. 351-357, 2003.
- ◇ Cano, M.P.; Hernandez, A.; Ancos, B.; 1997. *High Pressure and Temperature Effects on Enzyme Inactivation in Strawberry and Orange Products*. Journal of Food Science, v. 62, n. 1, p. 85-88.
- ◇ Chefetel, J.C.; 1995 Review: *High-pressure, microbial inactivation and food preservation*, Food Science and Technology International, v. 1, n. 2/3, p. 75-90.
- ◇ Copeland, L.; Blazek, J.; Salman, H.; Tang, M. C.; 2009. *Form and functionality of starch*. Food Hydrocolloids, 23: 1527 – 1534.
- ◇ Czepirski, L.; Komorowska-Czepirska, E.; Szymonska, J.; 2002. *Fitting of different models for water vapour sorption on potato starch granules*. Applied Surface Science, 196, 150-153.
- ◇ deMan, J. M.; 1999. *Principles of Food Chemistry*, 3ªEdição, Aspen Publishers. pp. 29-100.
- ◇ Eerlinger, R.C.; Jacobs, H.; Delcour, J.A.; 1995. *Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch*. Journal of Cereal Science, v.22, p. 129-138.
- ◇ Eliasson A. C.; 1996. *Carbohydrates in food*. New York, Marcel Dekker, Inc. pp. 347-410, 431-488.
- ◇ Enrione, J. I.; Hill, S. E.; Mitchell, J. R.; 2007. *Sorption and Diffusional Studies of Extruded Waxy Maize Starch-Glycerol Systems*. Starch, 59, 1-9.
- ◇ Frazier, P.J.; Donald, A.M.; Richmond, P.; 1997. *Starch Structure and Functionality*, 1ªEdição. Cambridge; Royal Society of Chemistry. pp. 1-8 e 26-33.

- ◇ Gerhartz, W.; 1990. *Enzymes in Industry-Production and Applications*. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft. pp. 78-81.
- ◇ Gomes, M. R. A.; Clark, R.; Ledward, D. A.; 1997. *Effects of high pressure on amylases and starch in wheat and barley flours*. Food Chemistry, 63(3), 363-372.
- ◇ Grant, S.; Petterson, M.; Letdward, D.; 2000. *Food Processing Gets Freshly Squeezed*. Chemistry & Industry. V.24.
- ◇ Hamada, K.; Nakatomi, Y.; Shimada, S.; 1992. *Direct induction of tetraploids or homozygous diploids in the industrial yeast, Saccharomyces cerevisiae by hydrostatic pressure*. Current Genetics v. 22 (5), p. 371-376.
- ◇ Hayashi, R.; Hayashida, A.; 1989. *Increased amylase digestibility of pressure-treated starch*. Agriculture and Biological Chemistry 53, 2543–2544.
- ◇ Heinz, V.; Buckow, R.; 2009. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*.
- ◇ Hendrickx, M.; Ludikhuyze, L.; Van den Broeck, I; Weemaes, C.; 1998. *Effects of High pressure on enzymes related to food quality (review)*. Trends in Food Science & Technology, v. 9, n.5, p.197-203.
- ◇ Isabelle Capron; Paul Robert; Paul Colonna; Maurice Brogly; Véronique Planchot; 2007. *Starch in rubbery and glassy states by FTIR spectroscopy*. Carbohydrate Polymers, 68, 249–259.
- ◇ Jatindra, J. S.; Tiwari, A.; 2007. *Moisture Sorption Isotherms of Osmotically Dehydrated Sweet Pepper*. International Journal of Food Engineering, 3(5), 15.
- ◇ Katopo, H.; Song, Y.; Jane, J., 2002. *Effect and mechanism of ultrahigh hydrostatic pressure on the structure and properties of starches*. Carbohydrate Polymer, 47, 233-244.
- ◇ Labuza T.P.; 1975. *Interpretation of sorption data in relation to the state of constituent water*, R. Duckworth, Editor, Water relations in foods, Academic Press, New York, pp. 155–172.
- ◇ Leung, H.K.; 1986. *Water activity and other colligative properties of foods*, M.R Okos, Editor, Physical and chemical properties of food ASAE, pp. 138–185.
- ◇ Liu Pei-Ling; Hu Xiao-Song; Shen Qun; 2010. *Effect of high hydrostatic pressure on starches: A review*. Starch/Stärke, 62, 615–628.

- ◇ Marc J.E.C. van der Maarel; Bart van der Veen; Joost C.M. Uitdehaag; Hans Leemhuis; L. Dijkhuizen; 2002. *Properties and applications of starch-converting enzymes of the  $\alpha$ -amylase family*. Journal of Biotechnology 94 (2002) 137–155
- ◇ McMinn W. A. M.; Magee, T. R. A.; 1997. *Moisture sorption characteristics of starch materials*. Drying Technology, 15(5), 1527-1551.
- ◇ Mishra, S.; Rai, T.; 2006. *Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches*. Food Hydrocolloids, 20, 557-566.
- ◇ O. Sevenou; S.E. Hill; I.A. Farhat; J.R. Mitchell; 2002. *Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy*. International Journal of Biological Macromolecules, 31, 79 - 85.
- ◇ Ochoa, A.; Yoo, J-U.; Repke, G.; Wozny; Yang, D.R.; 2007. *Modeling and Parameter Identification of the Simultaneous Saccharification-Fermentation Process for Ethanol Production*, Biotechnology Progress, 23, 1454-1462.
- ◇ Oh, H. E.; Pinder, D. N.; Hemar, Y.; Anema, S. G.; Wong, M.; 2008. *Effects of high-pressure treatment on various starch-in-water suspensions*. Food Hydrocolloids, 22, 150-155.
- ◇ Okos, M.R.; Narsimhan, G.; Singh, R.K.; Weitnauer, A.C.; 1992. *Food dehydration*, in D.R. Heldman, D.B. Lund, Editors Handbook of Food Engineering, Marcel Dekker Inc, New York, pp. 437–562.
- ◇ Oliveira, Fernanda A. R. ; Oliveira, Jorge C. ; 1999. *Processing Foods: Quality Optimization and Process Assessment*. CRC Press.
- ◇ Oyelade, O. J.; Tunde-Akintunde, T. Y.; Igbeka, J. C.; 2008. *Predictive equilibrium moisture content equations for yam (*Disoscorea rotundata*, Poir) flour and hysteresis phenomena under practical storage conditions*. Journal of Food Engineering, 87, 229-235.
- ◇ Parker R.; Ring S.G.; 2001. *Aspects of the physical chemistry of starch*. Journal of Cereal Science, 34, 1-17.
- ◇ Peng, G.; Chen, X.; Wu, W.; Jiang, X.; 2007. *Modeling of water sorption isotherm for corn starch*. Journal of Food Engineering, 80, 562-567.
- ◇ Rahman, M. S.; 1998. *Handbook of Food Preservation*, 1ª Edição; USA; Marcel Dekker. pp. 533-569.

- ◇ Rockland L. B.; 1960. *Saturated Salt Solutions for Static Control of relative Humidity between 5° and 40°C*. Analytical Chemistry, 32, pp. 1375-1376.
- ◇ Roos, Yrjo H.; 1995. *Phase transitions in foods*. San Diego, Academic Press, inc. pp. 86-91.
- ◇ Ruan, R.; Chen P.; 1998. *Water in Foods and Biological Materials - A Nuclear Magnetic Resonance Approach*. Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, Pennsylvania, USA, and Basel, Switzerland. 307 pages. ISBN No. 1-56676-589-7.
- ◇ Rubens, P.; Snauwaert, J.; Heremans, K; Stute, R.; 1999. *In situ observation of pressure-induced gelation of starches studied with FTIR in the diamond anvil cell*. Carbohydrate Polymers, 39, 231-235.
- ◇ Sablani, S. S.; Kasapis, S.; Al-Tarqe, Z. H.; Al-Marhubi, I.; Al-Khuseibi, M.; Al-Khabori, T.; 2007. *Isobaric and isothermal kinetics of gelatinization of waxy maize starch*. Journal of Food Engineering, 82, 443-449.
- ◇ Sale, A.J.H.; Gould, G.W.; Hamilton, W.A.; 1970. *Inactivation of bacterial spores by hydrostatic pressure*. Journal Genetically Microbiology, v.60, n.3, p323-334.
- ◇ Schenck, F. W.; 1992. *Starch hydrolysis products - worldwide technology, production, and applications*. New York; pp. 23-33, 45-71, 81-86 e 103.
- ◇ Schwenk, M; 2001. *Starch Ingredients and Processing*. The Manufacturing Confectioner. pp. 1-6.
- ◇ Selmi, B.; Marion, D.; Cornet, J. M. P.; Douzals, J. P.; Gervais P.; 2000. *Amyloglucosidase Hydrolysis of High-Pressure and Thermally Gelatinized Corn and Wheat Starches*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(7), 2629-2633.
- ◇ Sikorski, Z. E.; 1997. *Chemical and Functional Properties of Food Components*, Technomic Publishing Company, Inc. pp. 23-29.
- ◇ Stolt, M.; Oinonen, S.; Autio, K.; 2001. *Effect of high pressure on the physical properties of barley starch*. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 1, 167-175.

- ◇ Sundaram, J.; Durance, T. D.; 2008. *Water sorption and physical properties of locust bean gum-pectin-starch composite gel gried using different drying methods*. Food Hydrocolloids, 22, 1352-1361.
- ◇ Tamaoka, T.; Itoh, N.; Hayashi, R.; 1991. *High HHP effect on Maillard reaction*. Agriculture and Biological Chemistry, 55 (8), 2071–2074.
- ◇ Timmermann, E.O.; Chirife, J.; Iglesias, H.A.; 2001. *Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters?* Journal of Food Engineering, 48, pp. 19–31.
- ◇ Tomás Norton & Da-Wen Sun; 2008. *Recent Advances in the Use of High Pressure as an Effective Processing Technique in the Food Industry*. Food Bioprocess Technology.
- ◇ Tucker, G. A.; Woods, L. F. J.; 1995. *Enzymes in Food Processing*, 2ªEdição. Blackie Academic & Professional. pp. 250-267.
- ◇ Vallons, K.J.R.; Arendt, E.K.; 2010. *Understanding high pressure-induced changes in wheat flour-water suspensions using starch-gluten mixtures as model systems*. Food Research International 43, 893–901.
- ◇ Van den Berg, C.; Kaper, F.S.; Weldring, J.A.G.; Wolters, I.; 1975. *Water binding by potato starch*. Journal of Food Technology, 10 pp. 589–602.
- ◇ Vittadini, E.; Carini, E.; Chiavaro, E.; Rovere, P.; Barbanti, D.; 2008. *High pressure-induced tapioca starch gels: physicochemical characterization and stability*. European Food Research and Technology, 226, 889–896.
- ◇ Wei Zou; Long Yu; Xingxun Liu; Ling Chen; Xiaoqing Zhang; Dongling Qiao; Ruozhi Zhang; 2012. *Effects of amylose/amylopectin ratio on starch-based superabsorbent polymers*. Carbohydrate Polymers, 87, 1583– 1588.
- ◇ Wenhao Li; Yunfei Bai; Saleh, A. S. Mousaa; Qing Zhang; Qun Shen; 2011. *Effect of High Hydrostatic Pressure on Physicochemical and Structural Properties of Rice Starch*. Food Bioprocess Technology.
- ◇ Wexler, A.; Hasegawa, S.; 1954. *Relative Humidity-Temperature Relationships of Some Saturated Salt Solutions in the Temperature Range 0° to 50°C*. Journal of Research of the National Bureau of Standards, 53(1), pp. 19–26.



- ◇ Whistler, R. L.; BeMiller, J. N., 1997. *Carbohydrate Chemistry for Food Scientist*, 1ª Edição. American Association of Cereal Chemists, Inc. pp. 117-151.
- ◇ Wioletta Błaszczak; Luybov, A. Wasserman; Józef Fornal; Vladimir, P. Yuryev; 2007. *Effect of High Hydrostatic pressure on the structure and gelling properties of amylopectin starches*. Polish Journal of Food and Sciences, Vol. 57, No. 4, 475–480.
- ◇ Włodarczyk-Stasiak, M.; Jamroz, J.; 2008. *Analysis of sorption properties of starch-protein extrudates with the use of water vapour*. Journal of Food Engineering, 85, 580-589.
- ◇ Yeting Liu; Vania Octaviani Selomulyo; Weibiao Zhou; 2008. *Effect of high pressure on some physicochemical properties of several native starches*. Journal of Food Engineering, 88, 126–136.
- ◇ Yu, X.; Schmidt, A. R.; Bello-Perez, L. A.; Schmidt, S. J.; 2008. *Determination of the bulk moisture diffusion coefficient for corn starch using an automated water sorption instrument*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56, 50-58.
- ◇ Zobel, H. F.; Stephen, A. M.; 1995. *Starch: Structure, Analysis, and Application. Pages 19-66 in: Food Polysaccharides*. A. M. Stephen, editor Marcel Dekker: New York.